

BIFIDIBACTERIUM BIFIDUM

Ses Facteurs de Croissance

Essais d'implantation chez le Nourrisson

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 22 décembre 1958

POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Michel MANCIAUX

Chef de Clinique Médicale Infantile
à la Faculté de Médecine
Ancien Interne Lauréat des Hôpitaux
Lauréat de la Faculté de Médecine

Né le 8 août 1928 à Audun-le-Roman (Meurthe-et-Moselle)

Examineurs de la Thèse :	{	MM. NEIMANN, Professeur	Président
		MELNOTTE, Professeur.....	Juges.
		de VEZEAUX de LAVERGNE, Agrégé..	
		PIERSON, Agrégé.....	

NANCY
IMPRIMERIE GEORGES THOMAS
Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage

1958

BIFIDIBACTERIUM BIFIDUM

Ses Facteurs de croissance

Essais d'implantation chez le Nourrisson



Digitized by the Internet Archive
in 2026

BIFIDIBACTERIUM BIFIDUM

Ses Facteurs de Croissance

Essais d'implantation chez le Nourrisson

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 22 décembre 1958

POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Michel MANCIAUX

Chef de Clinique Médicale Infantile
à la Faculté de Médecine
Ancien Interne Lauréat des Hôpitaux
Lauréat de la Faculté de Médecine

Né le 8 août 1928 à Audun-le-Roman (Meurthe-et-Moselle)



Examineurs de la Thèse :	{	MM. NEIMANN, Professeur.....	Président
		MELNOTTE, Professeur.....	Juges.
		de VEZEAUX de LAVERGNE, Agrégé..	
		PIERSON, Agrégé.....	

NANCY
IMPRIMERIE GEORGES THOMAS
Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage

1958

Université de Nancy - Faculté de Médecine

Doyen: M. P. SIMONIN

Assesseur: M. FRANCK

Doyens honoraires: MM. LUCIEN, MERKLEN et PARISOT

Secrétaire: M. P. RADUREAU.

Professeurs honoraires: MM. BOUIN, ANCEL, JACQUES, JEANDELIZE RICHON,
FRUHINSHOLZ, SANTENOISE, CHAILLEY-BERT, HAMANT, BINET, ABEL,
CAUSSADE, MUTEL.

PROFESSEURS:

Clinique de la Tuberculose	M. SIMONIN.
Hydrologie Thérapeutique et Climatologie	M. MERKLEN.
Anatomie pathologique	M. FLORENTIN.
Clinique chirurgicale	M. CHALNOT.
Clinique médicale	M. KISSEL.
Clinique obstétricale	M. VERMELIN.
Chimie médicale	M. WOLFF.
Clinique ophtalmologique	M. THOMAS.
Anatomie	M. BEAU.
Clinique chirurgicale	M. BODART.
Clinique de Stomatologie	M. HOUPERT.
Physiologie	M. FRANCK.
Histologie	M. LEGAIT.
Médecine du travail et réadaptation	M. PIERQUIN.
Physique médicale	N...
Clinique oto-rhino-laryngologique	M. GRIMAUD.
Clinique gynécologique	M. BERTRAND.
Hygiène et Médecine sociale	M. MELNOTTE.
Clinique médicale	M. MICHON.
Clinique médicale infantile	M. NEIMANN.
Bactériologie et Parasitologie médicales	M. HELLUY.
Pathologie médicale	M. HERBEUVAL.
Clinique urologique	M. GUILLEMIN.
Médecine légale	M. HEULLY.
Thérapeutique	M. LOUYOT.
Electro-Radiologie	M. ROUSSEL.

CONFERENCES - COURS ET CLINIQUES COMPLEMENTAIRES

Anatomie descriptive et embryologie	M. CAYOTTE maître de conférences, agrégé.
Anatomie pathologique	M. RAUBER, maître de conférences agrégé.
Chimie médicale	M. PAYSANT, maître de conférences agrégé.
Clinique cardiologique	M. L. MATHIEU, chargé de cours.
Cancérologie	M. FLORENTIN, professeur.
Clinique des maladies infectieuses	M. GERBAUT, chargé de cours.
Clinique des maladies mentales	M. HACQUARD, chargé de cours.
Clinique des maladies des vieillards	M. HERBEUVAL, professeur.
Clinique de chirurgie et orthopédie infantiles.	M. BEAU, professeur.
Clinique dermatologique	M. BEUREY, agrégé.
Clinique neuro-chirurgicale	M. LEPOIRE, agrégé.

Clinique neurologique	M. ARNOULD G., agrégé.
Clinique obstétricale	M. RIBON, agrégé.
Clinique ophtalmologique	M. ALGAN, agrégé.
Clinique O.R.L.	M. GOSSEREZ, agrégé.
Clinique de la Tuberculose	M. SIMONIN, professeur.
	M. LAMY, agrégé.
Epidémiologie et Hygiène	M. MELNOTTE, professeur.
	M. SENAUT, maître de conférences, agrégé.
	M. DEBRY, maître de conférences agrégé.
Hématologie et transfusion sanguine	M. REMIGY, chargé de cours.
Histologie	M. DOLLANDER, professeur sans chaire.
Médecine opératoire et Chirurgie expérimentale.	M. BENICHOUX, agrégé.
Parasitologie et Bactériologie	M. HELLUY, professeur.
	M. E. de LAVERGNE, maître de conférences agrégé.
Pathologie chirurgicale	M. LOCHARD, agrégé.
Pathologie expérimentale	M. SADOUL, maître de conférences, agrégé.
Pathologie générale	M. FAIVRE, agrégé.
Pathologie obstétricale	M. HARTEMANN, professeur sans chaire.
Pharmacologie	M. LAMARCHE, maître de conférences agrégé.
Physiologie	M. GRANDPIERRE, professeur sans chaire.
	M. ARNOULD P., maître de conférences agrégé.
Physique médicale	M. MARTIN, délégué, maître de conférences agrégé.
Propédeutique obstétricale	M. RICHON, agrégé.
Psychiatrie infantile et enfance déficiente	M. MEIGNANT, chargé de cours.
Médecine Infantile	M. PIERSON M., agrégé.
Séméiologie et Propédeutique chirurgicales	M. ANDRÉ, agrégé libre.
	M. MICHON J., agrégé.
	M. SOMMELET, agrégé.
Séméiologie et Propédeutique médicales	M. HARTEMANN P., Agrégé.
	M. LARCAN, agrégé.
	M. DUREUX, agrégé.

AGREGES LIBRES

MM. ANDRÉ, ARNUF, PIETRA, CORDIER, RICHON.

Le candidat répondra aux questions qui lui seront posées sur les diverses parties de l'enseignement médical.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.

SERMENT

Sur ma conscience, en présence de mes maîtres et de mes condisciples, je jure d'exercer la médecine suivant les lois de la morale et de l'honneur, et de pratiquer scrupuleusement tous mes devoirs envers les malades, mes confrères et la Société,

A notre Président de Thèse

MONSIEUR LE PROFESSEUR NEIMANN
Professeur de Clinique Médicale Infantile

Son enthousiasme scientifique, son affection paternelle pour les enfants qui souffrent, sa grande simplicité, sa droiture ont toujours été pour nous un prestigieux exemple.

En acceptant la présidence de cette thèse, il nous manifeste une fois de plus l'attachement qu'il nous porte.

Nous lui avons tant que ce travail ne peut être qu'un modeste témoignage de notre reconnaissance.

A nos Juges

MONSIEUR LE PROFESSEUR MELNOTTE
Professeur d'Hygiène et de Médecine Sociale
Médecin des Hôpitaux Militaires
Commandeur de la Légion d'Honneur

Nous avons toujours apprécié la clarté de son enseignement et sa probité humaine et scientifique.

Il a su réaliser la parfaite synthèse du travail de laboratoire et de la médecine clinique.

Nous le remercions du grand honneur qu'il nous fait en nous conviant à travailler dans son équipe. Nous sommes heureux et fier de le compter parmi nos juges.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ
E. DE VEZEAUX DE LAVERGNE
Maître de Conférence de Bactériologie
Chef de Laboratoire de Biologie des Hôpitaux

Il nous a guidé avec patience et bonté tout au long de ce travail. Nous avons trouvé dans son Laboratoire un accueil et une aide que nous n'oublierons jamais. Nous le remercions pour son appui, ses conseils et son enseignement.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ PIERSON
Professeur Agrégé de Pédiatrie et Puériculture
Médecin des Hôpitaux

Ses qualités de clinicien, de biologiste, d'enseignant ne sont déjà plus à vanter. Nous sommes certainement de ceux qui en ont le plus profité. C'est lui qui nous a proposé le sujet de ce travail, et qui nous a efficacement soutenu tout au long de son élaboration. Il veut bien nous honorer de son amitié: nous lui en sommes gré, et nous essayerons de mériter toujours sa confiance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CAUSSADE

Nous devons à son exemple notre vocation de pédiatre, et à son soutien d'avoir pu la réaliser. Il nous a guidé tout au long de notre formation hospitalière avec une paternelle sollicitude. De sa bonté pour nous, de l'intérêt qu'il veut bien porter à notre famille, nous le remercions de tout cœur.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR KISSEL

Nous avons été son Interne à la Clinique Médicale B. Sa finesse diagnostique, la profondeur et la subtilité de son enseignement, sa parfaite courtoisie nous ont séduit. Nous l'assurons de notre respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR HERBEUVAL

Dont nous avons été successivement l'externe puis l'interne. Son dynamisme, sa valeur didactique, son goût de la recherche ont plus d'une fois forcé notre admiration. Il a été pour nous d'une extrême gentillesse dans des circonstances pénibles. Pour tout cela, nous lui gardons une profonde gratitude.

A MONSIEUR LE DOCTEUR LEVESQUE

Médecin Honoraire des Hôpitaux de Paris

Qui avec bonté et désintéressement a bien voulu nous faire profiter de ses travaux et de son immense expérience de pédiatre et de diététicien. Nous y avons été très sensible et l'en remercions de tout cœur.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RAYNAUD

Chef du Service des Anaérobies
à l'Institut Pasteur de Garches

Ses patientes et fructueuses recherches sont à l'origine de ce travail. Nous avons beaucoup appris à son contact. Qu'il soit assuré de notre admiration pour la rigueur de son œuvre scientifique et de notre reconnaissance pour l'amabilité de son accueil.

A la mémoire de nos Maîtres défunts

MONSIEUR LE PROFESSEUR DROUET

MONSIEUR LE PROFESSEUR WATRIN

MONSIEUR LE PROFESSEUR GIRARD

MONSIEUR LE PROFESSEUR ROUSSEAUX

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. COLLIN

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. DE VEZEAUX DE LAVERGNE

A nos Maîtres de la Faculté et des Hôpitaux

A nos Camarades de l'Internat des Hôpitaux de Nancy

A MA FAMILLE

A MES AMIS

INTRODUCTION

« La mère doit nourrir son enfant... » « Le lait de la mère appartient à l'enfant... » Les progrès de la médecine et de l'industrie n'ont rien ôté de leur valeur à ces aphorismes, fort à l'honneur au début de ce siècle. Mais il faut reconnaître que la vie moderne en rend l'application parfois difficile: l'augmentation de la natalité avec rapprochement des naissances, le travail fréquent de la mère en dehors du foyer sont autant d'entraves à l'allaitement maternel. Malgré les efforts des pédiatres, un nourrisson sur deux ne boit plus au sein à l'âge de trois mois.

Contre ce phénomène sociologique, il y a peu à faire. C'est sans doute pourquoi les tendances de la diététique se sont surtout orientées vers l'adaptation du lait de vache à la consommation du nourrisson.

Initialement, ces tentatives d'« humanisation » du lait de vache ont porté principalement sur les différences physico-chimiques qui séparent les deux laits: écrémage, modification des protéines, adjonction de sucres spéciaux. Et de progrès en progrès, les laits artificiels ont atteint un haut degré de perfection, qui les rend facilement utilisables chez la grande majorité des nourrissons. Mais aucun n'a pu procurer aux enfants l'eutrophie et la résistance aux infections qui restent, jusqu'ici, l'apanage des bébés nourris au sein. Les fabricants de lait ont alors envisagé le problème sous un autre angle, et leurs recherches actuelles tendent à implanter, dans l'intestin des enfants nourris artificiellement, une flore bactérienne en tout point comparable à celle qui caractérise le nourrisson au sein.

Les travaux fondamentaux de TISSIER (191 à 195) ont en effet mis en évidence, voici bientôt soixante ans, la spécificité de la flore intestinale de l'enfant nourri au sein, flore composée en quasi-exclusivité d'un bacille Gram + très particulier. TISSIER a donné, de *Bacillus Bifidus Commuis*, une description magistrale à laquelle les innombrables travaux de plusieurs générations de bactériologistes n'ont ajouté que bien peu de choses.

Il a saisi en outre la profonde originalité de ce germe et sa signification physiologique. A sa suite, de nombreux chercheurs ont tenté d'acclimater *Bacillus Bifidus* dans le tube digestif des enfants nourris au lait de vache, mais ces essais fragmentaires, délicats, souvent divergents dans leurs conclusions, sont restés pendant des décades au stade du laboratoire. Ce n'est que depuis peu d'années que l'industrie laitière, entrevoyant l'intérêt de cette question, l'a enfin abordée sur le plan industriel.

Ayant eu personnellement l'occasion d'expérimenter un lait bifidogène*, nous rapportons ici les conclusions de ces essais. Mais il nous a semblé que ce travail serait incomplet si nous n'exposions pas auparavant les éléments de ce qu'on peut appeler, à la suite de MAYER (109), le « Problème *Bifidus* ». Nous rappellerons donc, en premier lieu, la morphologie et les caractéristiques bactériologiques du germe découvert par TISSIER. Nous envisagerons ensuite le cycle biologique de *Bacillus Bifidus* chez le nourrisson au sein, et les facteurs qui conditionnent son implantation et sa survie chez l'enfant nourri artificiellement. Dans la troisième partie, nous exposerons nos résultats personnels et les conclusions des travaux modernes qui semblent devoir apporter, à ce problème posé en 1899, une solution prochaine. M. le Docteur LEVESQUE, Médecin honoraire des Hôpitaux de Paris, et M. le Docteur RAYNAUD, Professeur à l'Institut Pasteur de Garches, dont on connaît la

* Nous remercions vivement la firme Mont-Blanc, qui a mis aimablement à notre disposition le lait nécessaire à notre expérimentation.

compétence dans ce domaine, ont bien voulu nous faire profiter de leur immense expérience, et nous ont permis de faire état de leurs résultats personnels, avant même leur parution. Nos conclusions auraient été bien fragmentaires sans leur amabilité, dont nous les remercions vivement.

PREMIÈRE PARTIE

BIFIDIBACTERIUM BIFIDUM

HISTORIQUE

UFFELMANN (203) en 1880 semble avoir été le premier à déceler dans les selles des nourrissons au sein « des bâtonnets très ténus, légèrement infléchis », si fréquents que ESCHERICH (46) en 1885, les rangea dans la catégorie des « obligate Bakterien ». Mais la culture sur plaques de gélatine donnant constamment naissance à *Bacterium Coli*, ESCHERICH conclut à l'unicité des deux germes que la coloration de Gram colore, selon lui, tantôt en bleu, tantôt en rouge. C'est l'étude critique de TISSIER sur « Le *Bacterium Coli* et la réaction chromophile d'ESCHERICH », étude publiée à la Société de Biologie du 2 décembre 1899 (191), qui constitue l'acte de naissance de *B. Bifidus*. Grâce aux techniques de culture en anaérobiose mises au point par VEILLON et ZUBER (204), TISSIER a pu identifier dans les selles de nourrissons treize espèces bactériennes, dont quatre nouvelles: parmi elles *B. Bifidus*, dont il envisage en détail la morphologie, les particularités biologiques, le rôle physiologique.

Mais à peine né, *B. Bifidus* fut confondu, sous l'influence des travaux de MORO (115) et FINKELSTEIN (47-48), avec *B. Acidophilus*, et cette regrettable confusion se retrouve dans nombre de publications. Malgré l'avis d'ADAM (5-6), 1923, nombreux furent les bactériologistes qui continuèrent à défendre l'unicité des deux germes, et à les décrire sous une commune identité: « groupe MORO - FINKELSTEIN - TISSIER ». PREVOT et RAYNAUD (155) ont, récemment, précisé les caractères différentiels de *B. Bifidus* et *B. Acidophilus*, et cette dualité ne fait actuellement plus de doute.

Les mêmes divergences se retrouvent dans l'étude de l'habitat de *B. Bifidus*, et surtout dans l'interprétation de son rôle: alors que MAYER (106 à 110) en fait le type même du germe utile à l'hôte — eubionte —, LEMBKE et FREUDENBERG, cités par PETUELY, n'attribuent pas grande signification à la flore bifidale.

De tout temps cependant, la majorité des pédiatres s'est ralliée à l'opinion émise par TISSIER: « *B. Bifidus* dans les selles = test de santé ». En font foi les nombreuses tentatives poursuivies dans le but d'implanter une flore bifidale dans l'intestin des enfants nourris artificiellement.

C'est au cours d'essais de ce genre que GYÖRGY (58) a pu isoler, en 1952, un mutant de *B. Bifidus* ayant des exigences biochimiques particulières: la « *Pennsylvanicus Variante* », ou « *Pen-Var* », dont nous préciserons plus loin les caractères et la signification. Signalons pour terminer que *B. Bifidus* a fait l'objet de très importants rapports au VI^e Congrès International de Pédiatrie (Zurich, 1950), aux III^e et IV^e Congrès Internationaux de la Nutrition (Amsterdam, 1954 - Paris, 1957), enfin au Symposium sur la Physiologie et la Pathologie de la Digestion du Nourrisson (Bâle, 1956). Cette floraison de travaux modernes prouve le regain d'intérêt suscité par le bacille de TISSIER, aussi bien chez les biologistes que chez les pédiatres.

NOMENCLATURE

ET PLACE DANS LA SYSTÉMATIQUE

SYNONYMES: Baptisé *Bacillus Bifidus Communis* par TISSIER en 1899, on le retrouve ensuite décrit sous le nom de *Bactéroïdes Bifidus* (TISSIER), *Thermobacterium bifidum*. HULL et RETTGER (75), en 1927, puis WEISS et RETTGER (210), en 1934, ont proposé le nom de *Lactobacillus Bifidus*, terme qui a encore cours dans la littérature anglo-saxonne. Les auteurs français et nordiques préfèrent l'appellation *Bifidibacterium Bifidum* (TISSIER), préconisée par ORLA-JENSEN (127) dès 1924. C'est ce nom qui est retenu par PREVOT (153) dans sa récente classification des Bactéries Anaérobies. C'est lui que nous employerons désormais, en le désignant sous ses initiales: *B. b.*

SYSTÉMATIQUE: il est habituel de ranger les Bifidobactéries dans un des trois genres de la famille des Actinomycetaceae, les deux autres étant représentés par les Actinobactéries et les Corynebactéries. BERGEY (15). Cependant, d'après l'édition 1957 de la classification de PREVOT, *B. b.* est une des six espèces de *Bifidibacterium* constituant un sous-genre (voisin du genre des *Actinobacterium*) de la famille des Actinomycetaceae, ordre des Actinobactériaux, classe des Actinomycétales. L'autre genre des Actinomycetaceae est représenté par le groupe *Corynebacterium*. Quoi qu'il en soit, c'est surtout avec les Actinobactéries et les Corynebactéries que nous aurons à envisager, plus loin, le diagnostic différentiel de *B. b.*

DESCRIPTION

I. — MORPHOLOGIE

B. b. est un bacille Gram positif, immobile, ne formant ni spores, ni gaz. Sa longueur varie de 2 à 5 μ , son épaisseur de 0,5 à 0,7 μ .

Dans la selle d'enfant au sein, les germes enchevêtrés en broussaille, ou juxtaposés en palissade, se présentent sous forme de bâtonnets ténus, légèrement incurvés, dont le contour extérieur est irrégulier, ondulé. Les extrémités sont tantôt effilées, tantôt renflées « en massue », tantôt bifurquées une, ou même deux fois (fig. 1).

En milieux favorables, les bacilles sont plus grands et plus vigoureux (fig. 2). Dans des conditions défavorables — culture vieillie, contamination aérienne —, la coloration devient irrégulière et réalise des formes en haltères (à granulations bipolaires), en massue ou avec une vésicule centrale: MAYER et MOSER (110). En milieu très acide: pH inférieur à 4,75, ADAM (2) a pu voir des formes courtes, à contours flous, presque semblables à des cocci.

Ce pléiomorphisme sans doute unique en son genre a donné lieu, évidemment, à de nombreuses descriptions de types morphologiques différents: KENDALL et HANER (77) ont cru pouvoir distinguer des formes fines, incurvées; des formes plus épaisses, bifides; des formes vacuolisées. HERTER (74) décrit de même des types bacillaires, bifides ou renflés, et interprète les deux derniers comme des formes de résistance du germe. WEINBERG (208) en fait des formes de souffrance, mais MAYER (110) écrit: « Nous n'avons pas le droit de parler de formes de dégé-

nérescence puisque toutes ces formes, même les plus bizarres, sont capables de reproduire les formes de départ. »

La répartition des différentes formes a fait l'objet de nombreuses discussions: à l'inverse de la plupart des auteurs, GYLLENBERG (55) trouve une prédominance des



FIG. 1.

Frottis de selle de nourrisson au sein. - Gr. : 1.250.

formes bifides dans les selles de nourrissons au sein. BAMBERGER (10) explique cette divergence par le fait que le type de germe diffère suivant qu'on s'adresse à la partie liquide de la selle, ou aux précipités de mucus. En culture, BLAUROCK (19) observe des colonies de types R et S, auxquelles correspondent des types morphologiques différents, BOVENTER (23) reprend cette distinction, et MALYOTI (100) y ajoute une troisième forme: type M (mucoïde). C'est par l'utilisation des milieux de culture minimale ou

optimale que GERBER et SCHWARTZER (52), puis HASSINEN (73), KUHN et TIEDEMANN (85) étudient la distribution des différents types de *B. b.* et ses possibilités de mutation. On peut conclure avec BAMBERGER que l'aspect morphologique de *B. b.* est en dépendance étroite avec son sol nourricier, mais que la réversibilité des différentes

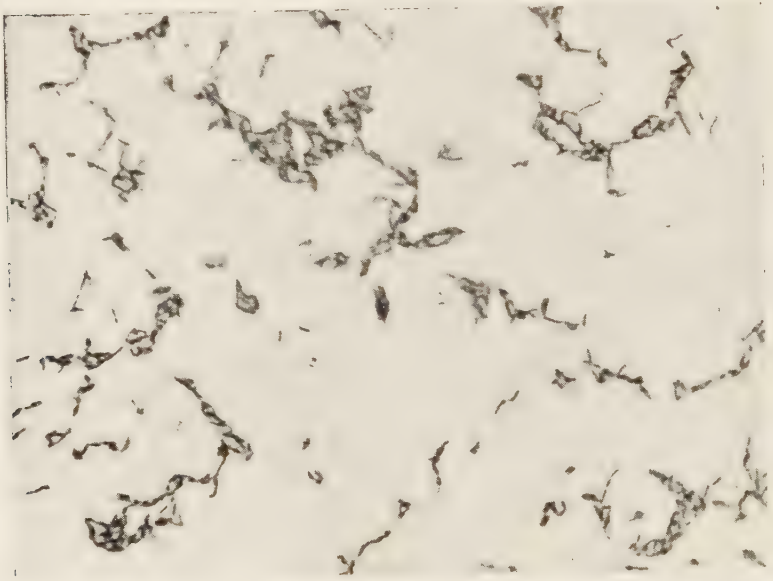


FIG. 2.

Aspect de *B. b.* en culture. - Gr. : 1.250

formes et le caractère capricieux de leur répartition enlèvent beaucoup de leur intérêt aux considérations purement morphologiques.

La colorabilité de *B. b.* est tout aussi capricieuse: à côté des bacilles uniformément colorés par le Gram, certains prennent le colorant d'une manière non homogène, alors que des germes très jeunes, ou au contraire très âgés, peuvent être Gram négatifs.

II. — PHYSIOLOGIE

B. b. est *anaérobie* strict. Cependant dès 1903 PASSINI (132) a pu cultiver certaines souches en aérobiose relative, fait confirmé par de nombreux auteurs, et tout récemment par MAYER, GRATZ et ZEISSLER (109). Comme BLUHDORN (22) l'a démontré, cette « microaérophilie » de certaines variétés de *B. b.* ne doit être admise qu'après élimination des cultures mixtes: les souches de *Bifidus* réputées facultatives ne sont trop souvent que des cultures impures, contaminées par *Lactobacillus acidophilus*. En tout cas, *B. b.* n'est jamais facultatif d'emblée.

L'*amplitude thermique* de *B. b.* est minime. Les cultures sont extrêmement pauvres à 20°, lentes à 22°; la température optima est de 37 à 38°; la thermorésistance est nulle: *B. b.* meurt à 60°.

Le *pH optimum* de culture est dans la zone acide, à 6,4 d'après PETUELY et LYNNAU (146), entre 5,5 et 5,9 pour ADAM. Les pH souvent plus acides des selles de nourrissons au sein s'expliquent par la continuation, après la mort du germe, de certains processus de fermentation. *B. b.* n'est donc pas véritablement acidophile, mais tolère des pH bas qui inhibent le développement des autres bactéries: c'est là un véritable phénomène « d'antagonisme chimique », dont nous aurons à reparler plus loin.

Dans les conditions les meilleures, la *longévité* de *B. b.* est de trois semaines à trois mois: DELBOVE (35). Dans la pratique, la fragilité de *B. b.* impose, au laboratoire, des repiquages fréquents: tous les sept jours au maximum.

III. — CARACTÈRES CULTURAUX

TISSIER isolait ses souches de *Bifidus* par ensemencement à chaud en gélose sucrée profonde de dilutions de plus en plus faibles, puis par repiquage en milieu liquide des colonies séparées. DELBOVE conseille l'isolement dans

des tubes de gélose profonde gélatinée et le repiquage dans un bouillon additionné de gélatine et d'extrait globulaire, réparti en tubes de HALL. Malgré la mise au point de ces techniques, simples et sensibles dans leurs résultats, d'innombrables procédés et milieux de culture ont été proposés, et l'on peut dire que chaque auteur qui s'est occupé de *B. b.* a préconisé son milieu personnel. Il n'est pas dans notre intention de passer en revue ces différents milieux : on en trouvera le détail dans l'ouvrage de WEINBERG et dans les publications de RAYNAUD (157). Nous nous sommes personnellement servi du milieu de BLAUROCK (20) modifié par RAYNAUD, et dont voici la composition :

Milieu Blaurock modifié :

Foie de veau frais haché	500 g
H ₂ O	1.000 ml

Chauffer pendant 2 heures à 100°. Recompléter le volume à 1.000 ml avec de l'eau. Ajouter :

Peptone	10 g
NaCl	5 g

Si le milieu doit être solidifié, ajouter la gélose : 20 g.

Ajuster le pH à 7,4 par de la soude concentrée. Précipiter par passage à l'autoclave à 120° pendant 15 minutes. Filtrer sur papier. Ajouter :

Lactose	10 g
Cystine	2,5 mg.

La cystine est ajoutée sous la forme de 0,25 ml d'une solution à 10 ml dans l'acide chlorhydrique N/10.

Répartir. Stériliser par passage à l'autoclave pendant 30 minutes à 108°-109°.

Le pH final est égal à 7,0-7,2 sans rajustement.

On peut également utiliser la gélose Veillon pour anaérobies de l'Institut Pasteur, sous réserve de l'enrichir de 1 % de lactose, et de 0,25 mg % de cystine. Le milieu peut enfin être rendu plus sélectif par l'adjonction de 1,2 g/l d'acide sorbique.

En milieu solide, *B. b.* développe en trois à quatre jours des petites colonies ovoïdes, blanchâtres, qui s'arrêtent à

trois centimètres environ de la surface du tube. Certaines colonies restent ainsi, sans dépasser le diamètre de 2 millimètres. D'autres, mieux séparées, continuent à croître jusqu'à 4 millimètres environ. Elles sont alors lenticulaires, régulières, à bords nets, avec parfois un petit prolongement sur une de leurs faces. En milieu de BLAUROCK, les colonies peuvent devenir volumineuses, légèrement irrégulières et à centre jaune foncé (RAYNAUD).

À la suite de SCHIAPARELLI (173), BLAUROCK et BOVENTER (23) distinguent, en gélose solide, deux types différents de colonies: une forme S à colonies lisses, hémisphériques et d'un blanc brillant, et une forme R, à colonies plates, mates, à limites floues. MALYOTH et BAUER (99) décrivent en outre une forme M (mucoïd form). Pour MAYER et MOSER, cette subdivision est sans valeur: elle tient au degré d'humidité et à la teneur en oxygène du milieu ambiant, et il y a réversibilité entre les différentes formes.

B. b. ne pousse pas en gélose profonde simple, ni sur gélose couchée. En gélose profonde glucosée, la culture est discrète; il n'y a ni production de gaz, ni liquéfaction de la gélatine. En gélose au sang + foie il forme des colonies globuleuses, opaques, de couleur rouge brun. En gélose acétique au 1/600, petites colonies lenticulaires, blanches et brillantes.

Dans les milieux liquides, la culture est abondante en solutions glucosées ou lactosées à 1 %: le bouillon se trouble en deux à trois jours dans la zone d'anaérobiose, mais reste clair dans la zone d'aérobiose, située au-dessus de l'étranglement du tube de HALL. Il se forme en huit à dix jours un dépôt filant et épais au fond du tube. Il n'y a pas production de gaz. La culture est bonne en lait de femme ou de vache: le lait est rapidement coagulé, avec rétraction du caillot, acidité marquée, pas de gaz. MARGET et NABER (105) signalent que certaines souches de *B. b.* ne se développent pas dans du lait de femme stérilisé.

mais croissent bien en lait cru, alors que d'autres poussent indifféremment en lait cru ou en lait bouilli. PETUELY (141) confirme l'existence de colonies aptes à se développer sur milieux nutritifs préalablement chauffés à 60° et base sur ce caractère, ainsi que sur la rapidité de croissance et le diamètre maximum atteint, une division en trois types différents de *B. b.* BAMBERGER décrit cinq formes culturales de *B. b.*, auxquelles correspondent des différences microscopiques, fermentaires et sérologiques. Mais il insiste sur les possibilités de mutation et de cultures mixtes...

Ces constatations suggèrent que les différentes souches de *B. b.* ont des besoins nutritionnels particuliers. RAYNAUD propose d'ailleurs une classification de *B. b.* basée sur les exigences de croissance. On peut distinguer, d'après lui :

— des souches à besoins minima, ou souches ordinaires (« regular strains » de GYÖRGY), qui ne réclament pour leur croissance que cystéine, un sel d'ammonium, biotine, pantothénate et un sucre ;

— des souches régulières nécessitant, en plus, pantéthine ou pantéthéine ;

— la souche Pen ou « Pen Variante » de GYÖRGY, qui se définit par son besoin en certains oligosaccharides : facteur *Bifidus* de GYÖRGY ;

— les souches type TISSIER n'ayant besoin ni de pantéthine, ni de facteur de GYÖRGY, mais réclamant par contre un facteur de croissance de nature protidique, voisin de la streptogénine : facteur *Bifidus II* de RAYNAUD.

Nous verrons plus loin l'intérêt de cette classification, riche d'applications pratiques.

IV. — CARACTÈRES BIOCHIMIQUES

— *Fermentation des sucres*: Glucose, lactose, saccharose, lévulose, galactose et inuline sont fermentés, avec production d'acides — trois parties d'acide lactique pour une partie d'acide acétique —, mais sans gaz. Le sucre le mieux attaqué est le lactose: ADAM (1). BLAUROCK (19) classe, suivant leur utilisation décroissante: lactose, galactose, glucose, maltose, polysaccharides. Toutes les souches d'ORLA JENSEN (130) ont mieux fermenté le pentose que le glucose, et mieux ces deux sucres que galactose et mannose. BOVENTER (24) indique également les pentoses comme très fermentescibles, et signale que sorbite, raffinose, inuline, salycine et rhamnose sont irrégulièrement attaqués. Pour PREVOT (153), dextrine, amidon, maltose, raffinose et tréhalose sont fermentés par quelques souches. BAMBERGER dresse un tableau de quatre types fermentaires différenciés d'après leur comportement variable vis-à-vis de dix-huit sucres simples. BEERENS (12) enfin distingue un type buccal qui fermente toujours la mannite, et un type fécal, très souvent mannite négatif, mais parfois mannite positif.

— *Autres caractères biochimiques*: *B. b.* n'utilise pas les acides aminés ni l'albumine du lait. Il utilise par contre l'acide caséinique, les caséinates de sodium et de calcium, le lactosérum de lait de femme. DUMAS (41). Le lait de femme représente donc un excellent milieu de culture; il est rapidement coagulé avec rétraction du caillot.

B. b. pousse en eau peptonée; il ne produit ni indole, ni phénol, ni H_2S . Il n'attaque pas les protéines coagulées. Il ne réduit pas les nitrates, mais utilise l'urée qui disparaît des cultures (TISSIER, WEINBERG, DUMAS). Les souches examinées par PREVOT n'hydrolisent pas l'urée. *B. b.* ne possède pas de catalase.

Comme l'ont montré FRAENKEL (49), puis KLEIN-SCHMIDT (79), *B. b.* ne transforme pas la bilirubine en

stercobiline: c'est ce qui explique la couleur jaune d'or (bilirubine) ou légèrement verdâtre (biliverdine) des selles des nourrissons au sein.

Dans nos identifications, nous nous sommes contenté des critères précisés par BEERENS, qui suffisent à un diagnostic positif formel:

— Bacille G +, qui présente constamment en milieu de BLAUROCK les ramifications caractéristiques (RAYNAUD);

— Anaérobie strict: pas de culture en gélose inclinée à l'air;

— Non gazogène;

— Pas d'attaque de l'amidon;

— Pas de catalase;

— Pas de réduction des nitrates;

— Pas de production d'indole;

— Culture en gélose profonde additionnée d'1/600 d'acide acétique;

— Mannite: $\pm$ suivant les souches.

V. — CARACTÈRES SÉROLOGIQUES

Les premiers auteurs qui se sont attachés à la sérologie de *B. b.* ont surtout cherché à différencier, de cette manière, *Bifidus* et *Acidophilus*. C'est ainsi que DISTASO (38) a préparé un sérum spécifique agglutinant exclusivement *Bifidus*, et que BLUDHORN (22) a mis au point une réaction de fixation également spécifique. Si CRUICKSHANK (34), puis WEISS et RETTGER n'ont pas confirmé ces résultats, c'est, d'après WEINBERG, parce qu'ils travaillaient à partir de cultures mixtes.

Par la suite, c'est le germe lui-même qui a été divisé en sous-groupes sérologiques. BOVENTER trouve, aux souches R et S, des titres d'agglutination différents. BLAUROCK décrit quatre types sérologiques, et GYÖRGY réussit l'identification sérologique de sa variante Pen. BAMBERGER arrive à distinguer cinq variétés antigéniques de *B. b.* (A₁, A₂, B, C, D), chacune correspondant aux

différents sous-groupes par lui décrits d'après des caractères culturels, microscopiques et fermentaires définis. Nous avons dit que MAYER mettait en doute ces subdivisions; pour cet auteur « la tentative de diviser *B. b.* en différents types d'après des méthodes sérologiques est à considérer comme non réussie ». RAYNAUD admet cependant la distinction de cinq constituants antigéniques proposée par WILLIAMS, NORRIS et GYÖRGY (211): II a 1-2-3-4-5.

Plus récemment, BERGER (14), à l'aide de sérum de lapins immunisés, est parvenu à différencier les souches de *B. b.* isolées de selles de nourrissons au sein et les souches provenant des selles d'enfants nourris avec des laits humanisés.

Quoi qu'il en soit, le faible pouvoir antigénique de *B. b.* rend difficiles ces identifications sérologiques, et la distinction des souches suivant leurs besoins nutritifs est certainement beaucoup plus valable.

VI. — POUVOIR PATHOGÈNE

— *Spontané*: On peut le tenir pour nul. *B. b.* est même, au contraire, le type du germe utile à l'organisme. Il est cependant classique de citer les observations de ALBARRAN et COTTET (8), de RACH et REUSS (156), de CIRILLO (31) où le germe, trouvé dans des cystites hémorragiques, a été incriminé par ces différents auteurs, à cause de l'acidification du milieu qu'il produit. Il faut reconnaître que ces observations apparaissent, avec le recul du temps, bien peu convaincantes: *Bifidus* trouvé en association avec d'autres germes, identification basée surtout sur les critères morphologiques, etc... C'est par le même mécanisme d'acidification excessive que *B. b.*, joint à d'autres espèces acidophiles, a pu être accusé de favoriser les caries dentaires. SEGUIN (177).

— *Expérimental*: L'injection de culture de *B. b.* aux animaux est totalement inoffensive. MAYER, BOVENTER

ont injecté des quantités énormes de cultures vivantes de *B. b.* par voie intrapéritonéale à des souris et à des rats, et par voie intraveineuse à des lapins: ils n'ont pu observer aucun effet nocif. L'exaltation de la virulence du Staphylocoque blanc par le *Bifidus*, signalée par TISSIER, n'a pas été confirmée.

B. b. est au contraire un antagoniste de certains germes pathogènes. TISSIER a été le premier à le noter. KLING (80), en 1914, a étudié le pouvoir empêchant de *B. b.* sur le Colibacille, le Proteus, le Staphylocoque. DELBOVE (35) a consacré sa thèse à l'étude de cet antagonisme, sur lequel nous aurons l'occasion de revenir.

VII. — SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES: ANTIBIOGRAMME

Il peut sembler paradoxal d'étudier la sensibilité aux antibiotiques d'un germe non pathogène dont la présence désirable dans le tube digestif représente un critère de santé. Mais c'est justement dans le but de préserver la flore bifidale au cours de l'antibiothérapie des infections du nourrisson qu'il peut être utile de connaître la sensibilité de *B. b.* aux antibiotiques usuels.

MAYER constate que ni la Pénicilline, ni la Streptomycine, ni les Sulfamides n'entravent, aux doses habituelles, la croissance de *B. b.* et que celui-ci, sensible à la Chloromycétine, s'y accoutume assez rapidement pour réapparaître au bout de quelques jours de traitement, à son taux antérieur. AUST (cité par ADAM), et FRISSELL (50) confirment la résistance de *B. b.* à la Streptomycine, mais le trouvent sensible à Pénicilline, Auréomycine, Chloromycétine, Sulfamides. PATZ (133) écrit que des doses courantes de Streptomycine, Pénicilline, Chloromycétine et Sulfamides n'inhibent pas la flore bifidale. LINNEWEGH (cité par MAYER), signale que l'adjonction de 2 % de Streptomycine au lait de femme ne perturbe en rien la flore spécifique. JORNS (76), cependant, trouve un retard d'ap-

parition de cette flore chez des nourrissons au sein recevant de la Streptomycine. Ces résultats divergents tiennent au rôle propre de l'infection sur l'éradication de la flore bifidale: il ne faut pas perdre de vue que la disparition de *B. b.* peut être le signe d'une infection débutante, encore latente cliniquement, donc non encore traitée. Ils tiennent également à la posologie, et à la voie d'administration des antibiotiques.

Dans le but de préciser ce point, dont l'intérêt clinique est évident, nous avons étudié *in vitro* le comportement de vingt souches de *B. b.* vis-à-vis de onze antibiotiques, et *in vivo* l'évolution de la flore bifidale chez des nourrissons soumis à l'antibiothérapie.

L'antibiogramme de *B. b.* n'a jamais fait l'objet, à notre connaissance, d'un travail d'ensemble. DE LAVERGNE et coll. (89) ont testé une souche de *Bifidus* au cours d'une étude sur la sensibilité de dix-sept espèces anaérobies. C'est avec eux que nous avons repris le problème, et nos investigations ont porté sur vingt souches différentes, provenant pour moitié de nourrissons au sein, pour moitié d'enfants recevant une alimentation artificielle bifidogène. La méthode choisie a été celle de BEERENS (13): technique des disques en milieu solide, dont les résultats sont précisés par la méthode des dilutions en milieu liquide, en présence de vert Janus, décrite par PREVOT (154). Ainsi à une zone d'inhibition totale (de part et d'autre du disque) exprimée en millimètres correspond, pour chaque antibiotique, la sensibilité exprimée en μg ou en unités; le détail de ces relations figure dans le travail de DE LAVERGNE et coll., cité plus haut. Les résultats globaux sont consignés sur le tableau I. Pour les résumer, on peut dire que nos souches, dont la sensibilité varie peu, malgré leurs provenances différentes, sont:

— très sensibles à Chloromycétine, Erythromycine, Spiramycine, O'éandomycine: (zone d'inhibition supérieure à 40 mm, sensibilité variant de 2 à 3 gamma);

— moyennement sensibles à Pénicilline, Auréomycine,

TABLEAU I

Sensibilité de 20 souches de B. b. à 11 antibiotiques

(Les chiffres représentent la hauteur totale, en mm
de la zone d'inhibition)

Souches	P	S	C	A	T	E	Sp.	Novo.	Ol.	Néo.	Fr.
Vi	15	18	34	20	20	36	40	-	-	14	14
Lu	20	10	48	19	20	60	61	32	-	36	35
Ari	18	4	42	15	15	52	52	33	-	24	31
Cu	19	15	-	17	18	50	52	25	-	31	32
Pr	20	8	43	12	12	-	-	-	-	25	14
Le	32	10	50	16	12	70	-	40	-	30	30
Br	33	0	45	16	10	56	50	23	48	9	10
Ge	36	2	40	12	15	58	60	22	50	14	10
Ou	33	0	43	10	12	55	58	20	47	-	6
Aul	28	0	38	13	12	50	50	-	40	-	-
Luc	20	19	40	16	17	50	48	19	48	17	19
Bal	25	2	37	12	13	43	45	16	43	13	13
Bad	15	3	43	15	19	44	48	30	40	26	18
Pro	20	0	39	13	20	40	43	28	36	16	13
De	18	0	40	20	23	43	46	27	36	24	18
Bi	19	2	39	19	22	50	50	34	42	30	29
Ho	17	0	46	22	23	59	60	31	50	26	39
Co	26	0	56	14	18	68	69	29	69	29	20
La	33	4	43	24	18	54	54	20	50	26	22
Man	32	10	30	28	30	34	44	34	-	16	14
Moyennes	24	5,3	41,9	16,6	17,4	51,1	51,6	27,2	46	22,5	19,3

Terramycine, Néomycine, Framycétine, Novobiocine:
(zone d'inhibition variant de 15 à 25 mm, sensibilité com-
prise entre 0,2 et 0,3 unité pour la Pénicilline, aux envi-
rons de 5 gamma pour les autres);

TABLEAU II

Evolution de la flore bifidale sous antibiothérapie.

Nom	Antibiotique reçu	Dose quotidienne	Durée du traitement	Taux de <i>B. b.</i>			Observations
				avant trait ^t	sous trait ^t	après trait ^t	
Nég.	Pénicilline	500.000 un.	6 j.	30 %	0 à 10 %	30 % en 3 j.	
Bou.	Streptomycine	250 mg	6 j.	30 %	18 %	—	
Slo.	Chloromycétine	500 mg	3 j.	30 %	0 % en 3 j.	30 % en 2 j.	
Fis.	Chloromycétine	500 mg	4 j.	55 %	0 % en 1 j.		
Luc.	Chloromycétine	500 mg	5 j.	90 %	0 % en 2 j.	60 % en 3 j.	Nourrisson au sein
Man.	Terramycine	375 mg	7 j.	90 %	20 % en 3 j.	70 % en 2 j.	id.
Cor.	Erythromycine	250 mg	15 j.	50 %	5 % en 2 j.	—	
Fab.	Spiramycine	500 mg	4 j.	50 %	5 % en 1 j.	—	
Mih.	Spiramycine	500 mg	4 j.	50 %	0 à 5 %	40 % en 3 j.	
Dr.	Framycétine	250 mg	2 j.	50 %	10 % en 1 j.	40 % en 2 j.	

— très peu sensibles ou résistantes à la Streptomycine : (zone d'inhibition inférieure à 10 mm, sensibilité supérieure à 10 gamma).

Parallèlement, nous avons suivi jour après jour la flore intestinale chez dix nourrissons soumis à l'administration d'antibiotiques variés. Nous avons noté, pour chacun d'eux, l'antibiotique reçu, la posologie et la durée du traitement, le taux de la flore bifidale avant, pendant et après l'antibiothérapie (cf tableau II). De ce tableau, on peut conclure que tous les antibiotiques exercent sur *B. b.* une action inhibitrice nette, traduite par une rapide diminution de la flore bifidale dès les premiers jours du traitement. Ceux que l'antibiogramme nous montre très actifs « décapitent » la flore en 24 à 48 heures, laissant subsister au maximum 5 % de *B. b.* (Chloromycétine, Erythromycine, Spiramycine). Les autres ont une action moins brutale et moins nette, mais toujours appréciable; seule la Streptomycine modifie peu la flore bifidale. Mais c'est un antibiotique dont la voie d'administration, le spectre assez restreint et les dangers d'incidents limitent beaucoup l'emploi chez le jeune nourrisson.

La comparaison des tableaux I et II est tout à fait concluante. Seule exception: la Framycétine, assez peu active *in vitro*, a cependant *in vivo* une nette action inhibitrice (cas n° 10). Cependant, l'on ne peut généraliser à partir d'une observation isolée, et il faut remarquer que la méthode employée teste les concentrations humorales des antibiotiques: or la Framycétine, très peu résorbée par voie sanguine, est au contraire concentrée au maximum dans le tube digestif, ce qui lui confère une puissante « action de contact » au niveau du germe. Dans le cas des antibiotiques qui ne franchissent pas la barrière intestinale, l'antibiogramme reflète mal ce qui se passe en clinique.

Cette exception mise à part, l'expérimentation clinique confirme point par point les résultats biologiques. Et l'on peut en conclure qu'en cas d'infection nécessitant l'antibiothérapie, il convient de donner la préférence, pour épargner au maximum la flore bifidale, aux antibiotiques que le laboratoire nous a montrés peu ou pas actifs sur *B. b.* Cette précaution, jointe à une posologie modérée et à un traitement de courte durée, est susceptible de limiter l'éradication de la flore utile, et par là d'éviter les complications digestives de l'antibiothérapie.

VARIÉTÉS BACTÉRIOLOGIQUES

Lactobacillus para Bifidus. Nous avons signalé, tout au long de la description de *B. b.*, le pléiomorphisme de ce germe, la variabilité de ses aspects culturels, de ses exigences nutritionnelles, de ses réactions antigéniques. Pour BAMBERGER, quatre hypothèses peuvent rendre compte de ces phénomènes « mystérieux et uniques en bactériologie » : cycle évolutif de *B. b.*, adaptation au sol nutritif, mutation, cultures mixtes. Après une étude critique extrêmement approfondie, il conclut que « la tendance extraordinaire de *B. b.* à cultiver en colonies mixtes est l'hypothèse la plus plausible, permettant d'expliquer les constatations souvent contradictoires de la littérature ».

Une de ces divergences porte sur la tolérance en oxygène. Anaérobie strict, *B. b.* peut cependant perdre ce caractère et devenir « microaérophile », tolérant une concentration en oxygène inférieure à 4 %. NORRIS, FLANDERS, TOMARELLI et GYÖRGY (123) ont même pu isoler une variante aérobie facultative de *B. b.*, qu'ils interprètent comme l'aboutissant d'une mutation irréversible et nomment *Lactobacillus para Bifidus*. Sur agar, les colonies de *B. b.* sont plates et opaques, celles de *L. para B.* apparaissent translucides. Au microscope, *L. para B.* est un bâtonnet droit, petit, jamais ramifié; il est sérologiquement distinct de *B. b.*

Tout en ratifiant cette description, RAYNAUD insiste pour que l'on conserve à l'espèce *B. b.* « l'autonomie à laquelle sa morphologie, son habitat et son rôle lui donnent droit ».

Pas plus que MAYER qui, depuis plus de dix ans, a testé d'innombrables souches, nous n'avons eu l'occasion d'observer ce mutant gazogène et aérophile de *B. b.*

Lactobacillus Bifidus variété *Pennsylvanicus*. La découverte par GYÖRGY (69), d'un mutant spécifique de *B. b.*, le *L. B.* variété *Pennsylvanicus*, ou « souche *Pen* » ou « *Pen var* », est certainement d'une portée pratique beaucoup plus grande. Il s'agit d'une souche isolée des selles d'un enfant nourri au sein, souche poussant peu ou pas sur les milieux habituels. Une meilleure croissance est obtenue par l'addition d'un facteur spécifique, présent dans le lait de femme et surtout dans le colostrum humain, présent également à des taux variables dans de nombreuses sécrétions organiques. Le lait de vache par contre est de 30 à 100 fois moins riche en « facteur de croissance *Pen* ». La souche *Pen* diffère sérologiquement des souches régulières; elle ne pousse bien qu'en présence de lactose; elle peut muter pour redonner une souche normale, perdant alors son besoin spécifique en facteur *Pen* (RAYNAUD).

A ce supplément de croissance constaté *in vitro* correspond la possibilité de provoquer une flore bifidale chez l'enfant nourri artificiellement par adjonction à son alimentation du facteur *Pen*, chimiquement précisé grâce aux travaux de GYÖRGY et coll., et de KUHN (81-82). PETUELY (137) fait cependant remarquer que chez le nourrisson au sein, qui reçoit avec le lait de sa mère une grande quantité de facteur *Pen*, la *Pen* variante manque habituellement; il n'attribue donc à la souche *Pen* qu'un rôle secondaire.

Cette objection n'ôte rien de sa valeur à la découverte de GYÖRGY: le facteur *Pen*, que RAYNAUD propose d'appeler facteur *Bifidus I* est susceptible de promouvoir, chez l'enfant nourri au lait de vache, une flore bifidale. Nous verrons plus loin l'intérêt de cette constatation.

DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

Le bactériologiste ayant isolé, d'une culture de selles par exemple, une souche de Bacilles Gram + non sporulés dont la morphologie évoque celle de *B. b.*, doit procéder à une identification rigoureuse de ce germe.

Il est logique de commencer par différencier *L. acidophilus* de *B. b.* Théoriquement, le diagnostic est facile, le premier étant un germe aérobic, cultivant en surface sur les milieux usuels, le second étant anaérobic strict. Aussi peut-on s'étonner de la confusion qui, sous l'influence des bactériologistes allemands, s'est faite entre ces deux germes. Dès 1923, ADAM s'élevait cependant contre cette conception et définissait les principaux caractères différentiels qui furent ultérieurement précisés par divers auteurs, par PREVOT et RAYNAUD tout particulièrement.

L. acidophilus et *B. b.* diffèrent profondément :

— morphologiquement : *B. b.* est ramifié, bifide avec renflements en massue, coloration non homogène, alors que *L. a.* est un bâtonnet droit, parfois filamenteux, non renflé, se colorant de façon uniforme.

— *B. b.* est anaérobic strict, *L. a.* aérobic facultatif.

— *B. b.* n'attaque pas l'amidon, *L. a.* l'utilise.

— *B. b.* ne réduit pas les nitrates, alors que *L. a.* les réduit.

— *B. b.* est catalase —, *L. a.* catalase +.

Tels sont les caractères distinctifs essentiels, les seuls que nous retiendrons ici.

Ce premier point précisé, les Bacilles Gram + non sporulés ayant tendance à la ramification peuvent appartenir

à l'un des genres suivants: *Ramibacterium*, *Actinobacterium*, *Corynebacterium*, *Bifidibacterium*.

Les Ramibactéries sont faciles à éliminer, car elles ont des cultures gazogènes, facilement reconnaissables de ce fait.

Les Actinobactéries ne cultivent pas sur milieu VF à 1/600 d'acide acétique.

Enfin les Corynebactéries non gazogènes s'identifient par leur comportement biochimique si différent de celui de *B. b.* qui est:

glucose +

glycérol —

indole —

catalase —

coagulant rapidement le lait à pH compris entre 3,9 et 5, ne réduisant pas les nitrates.

cultivant enfin en présence de VF à 1/600 d'acide acétique.

La troisième étape du diagnostic consiste à préciser l'espèce de la Bifidibactérie en cause. Les Bifidibactéries autres que *B. b.* sont beaucoup moins répandues dans la nature. *B. appendicitis* a une taille plus grande; ses colonies sont entourées d'une nébuleuse; il ne produit pas d'acide lactique; il est pathogène pour l'homme (colite, appendicite) et pour le cobaye. *B. constellatum*, isolé du tube digestif de l'abeille, n'utilise pas le lactose et ne coagule pas le lait. *B. intestinalis*, très rare, ne pousse pas en milieu lacté. *B. cornutum* produit de l' SH_2 . *B. bifurcatum*, issu de l'intestin de cheval, ne coagule pas le lait; il est gazogène.

Au total, les critères proposés par BEERENS et que nous avons rappelés plus haut, suffisent à une identification rigoureuse de *B. b.* Et malgré les nombreuses divergences que nous avons signalées, chemin faisant, sur ses différentes caractéristiques bactériologiques, ce germe possède une autonomie certaine. Mais c'est surtout son rôle physiologique qui lui confère une incontestable originalité.

DEUXIÈME PARTIE

ETUDE BIOLOGIQUE
DE LA FLORE BIFIDALE

I. — LA FLORE BIFIDALE DU NOURRISSON AU SEIN

C'est le tube digestif du nourrisson au sein qui constitue l'habitat principal de *B. b.* Ce fait, déjà signalé par TISSIER, et contrôlé par de nombreux chercheurs, a cependant été mis en doute par OLSEN (125): cet auteur, par la numération des colonies développées à partir d'un ensemencement de selles, arrive à la conclusion que le taux de *B. b.* ne présente pas de différence significative, que l'enfant boive au sein ou reçoive du lait de vache. Les conclusions de FRISELL (50) sont plus nuancées: pour lui, *B. b.* se rencontre aussi bien chez l'enfant nourri artificiellement que chez le nourrisson au sein, mais se trouve, chez ce dernier, à un taux significativement plus élevé. PETUELY (136) fait l'étude critique de la méthode employée par OLSEN et FRISELL et propose une technique de numération des germes basée sur la comparaison du nombre des colonies poussées sur plaques d'agar au pourcentage en bacilles G + du frottis des selles examinées. Cette méthode très discutable (tous les bacilles G + ne sont pas des *B. b.*) ne nous paraît pas nécessaire pour réaffirmer, après tant d'autres, que la selle du nourrisson au sein représente une culture quasi-pure de *B. b.*: un observateur non averti, par un simple coup d'œil sur un frottis de selles, peut en déterminer l'origine.

Nous allons donc envisager le cycle de *B. b.* chez le nourrisson au sein, pour préciser ensuite la signification physiologique de cette flore si particulière.

1. LE CYCLE DE *B. b.*

C'est TISSIER qui l'étudia le premier et décrivit les quatre phases suivantes : phase aseptique, infection croissante, transformation de la flore, phase de flore constante. Ce plan reste valable, et nous le compléterons simplement en étudiant les variations — spontanées et provoquées — de la flore installée, sa disparition, et enfin le cas particulier du prématuré.

— *Période de stérilité* (phase aseptique de TISSIER). — Le contenu intestinal du nouveau-né est stérile. L'examen microscopique du méconium montre des cristaux, des granulations de graisses, des cellules épithéliales à noyau picnotique ou disparu, mais pas de germes. Les cultures restent stériles. La durée de cette phase aseptique est variable : après une « débâcle épithéliale » qu'il situe entre la dixième et la vingtième heure, TISSIER observe les premiers germes — le plus souvent des petits "cocci fins disposés en diplocoques ou en tétrades — vers la fin du premier jour. ROUFOGALIS (170) isole *B. b.* du liquide amniotique par ponction stérile de la poche des eaux, et le retrouve dans l'intestin de l'enfant dès la naissance. RIESS (160), chez dix enfants nés par les voies naturelles, trouve des bactéries huit fois dès la première selle, les deux autres fois dans la deuxième. *B. b.*, présent entre la vingt-deuxième et la soixante et onzième heure suivant les cas, est constant après trois jours. Chez dix enfants extraits par césarienne vingt-quatre heures en moyenne après la rupture de la poche des eaux, les premières émissions méconiales contiennent toutes des germes, et même la flore a déjà un certain aspect monotone. Ces constatations sont cependant restées isolées, et la plupart des auteurs signalent l'absence de germes dans les selles du premier jour. Nous avons nous-même suivi l'apparition de la flore chez dix enfants nés normalement à terme. Les premières émissions méconiales ont toutes été stériles.

mais dès le deuxième jour, six nourrissons montrent un envahissement microbien, qui se généralise chez les dix avant la soixante-douzième heure. C'est donc à deux ou trois jours qu'on peut fixer la durée maxima de la phase aseptique.

— *Période d'invasion* (phase d'infection croissante). —

La pullulation microbienne, qui commence assez tôt après la naissance, est d'abord très variée. A côté de *B. b.*, qu'il est parfois difficile d'obtenir en culture, à cause de son taux relativement faible, on peut trouver *E. Coli*, Staphylocoques, *W. perfringens*, Entérocoques, *Lactobacillus acidophilus*, etc... En même temps, les cellules épithéliales diminuent, pour disparaître peu à peu. RIESS estime à 46 heures 05 en moyenne après la naissance le délai d'apparition de *B. b.* chez les enfants nés normalement; ce délai s'abaisse à 40 heures 20 chez les nouveau-nés extraits par césarienne. Chez nos dix nourrissons en expérience, nous avons pu mettre *B. b.* en évidence six fois à la 48^e heure, les quatre autres fois dès le troisième jour; il s'agit, il est vrai, de taux assez faibles: 16 % en moyenne à la 48^e heure, 25 % à la 72^e heure.

Cette invasion rapide d'un tube digestif stérile à la naissance pose évidemment la question de l'origine des germes. Question facile à résoudre quand il s'agit d'espèces aussi ubiquitaires que Colibacille, Entérocoque ou Staphylocoque, qui réalisent autour du nouveau-né un véritable « cycle infectant ». Question beaucoup plus ardue à propos de *B. b.*, germe anaérobie et qui passe pour peu répandu dans la nature!

Afin de préciser cette origine, il convient de passer tout d'abord en revue les voies de pénétration de *B. b.* chez le nourrisson et ses habitats secondaires.

Certains auteurs, à la suite de NAUJOKS (120) et LAUTER (88) admettent la possibilité d'une introduction du germe par voie rectale. S'inscrivent en faux contre cette hypothèse l'observation de KLEINSCHMIDT (présence de *B. b.*

dans le segment supérieur du tube digestif d'un enfant opéré au quatrième jour d'une imperforation anale) et les travaux de BOVENTER : par des prélèvements étagés tout au long du canal intestinal chez des nouveau-nés morts de malformations de un à dix jours après la naissance, cet auteur a pu montrer que l'infection bifidale se fait par voie descendante, le rectum étant initialement stérile. MAYER fait d'ailleurs remarquer qu'une remontée à partir de l'anus vers le haut intestin serait difficilement soutenable, étant donné l'immobilité de *B. b.*

C'est donc par voie orale que *B. b.* pénètre dans l'organisme du nouveau-né. Reste à envisager son origine.

Dès 1902, on a tenté de mettre en évidence *B. b.* dans le *vagin des femmes enceintes*. NAUJOKS, en 1921, le trouve dans les deux tiers des cas, mais, d'après BOVENTER, ses identifications sont sujettes à caution. BLAUROCK, cultivant la flore vaginale de cent soixante femmes, arrive à mettre en évidence *B. b.* dans 95 % des cas. BOVENTER ne le retrouve que chez la moitié environ de cent parturientes examinées, et note sa présence quasi-exclusive dans la partie inférieure du vagin. Il est évident que cette colonisation vaginale représente une voie d'invasion possible du nouveau-né, au moment de l'accouchement.

En 1910, NOGUCHI (122) soulève l'hypothèse d'une contamination par *le sein des nourrices*, sans en apporter de preuves. BESSAU (16) admet lui aussi cette éventualité, mais MORO (116), LAUTER (88), BOVENTER tiennent pour impossible la présence de *B. b.* dans le lait de femme ou sur le mamelon des nourrices. Récemment cependant, MOSER (117) a pu prouver que *B. b.* est présent presque régulièrement dans la glande mammaire, le colostrum, le lait de femme, par la culture du colostrum avant la première mise au sein ou de la couche crémeuse du lait aseptiquement recueilli. MOSER a même pu décrire un certain cycle à l'élimination lactée de *B. b.* : la sécrétion paraît se faire par poussées ; après cinq à sept jours de cultures positives suit une période d'égale durée où les ensemen-

cements restent stériles; cette périodicité a été contrôlée chez vingt mères pendant dix à douze semaines. Dans une seconde série d'expériences, MOSER met en culture du tissu frais de tétine de vache prélevé aussitôt l'abattage: dans quinze cas sur vingt et un, il pousse du *B. b.* Dans des coupes histologiques de tétine colorées au Gram, MOSER a pu voir, à l'intérieur de cellules à grands noyaux décolorés, des pelotes de bâtonnets G + qu'elle interprète comme des formes de croissance intracellulaire de *B. b.* Tout en considérant comme hypothétique le développement intracellulaire de *B. b.*, MAYER estime que l'invasion du tube digestif du nouveau-né se fait par voie lactée.

Une autre possibilité d'infection bifidale est représentée par *les mains des puéricultrices et des mères*. RIESS en a fourni la preuve, en faisant frotter l'extrémité des doigts de dix puéricultrices sur des plaques d'un milieu de culture spécial, mises ensuite à l'étuve en anaérobiose: cinq fois se développent des colonies de *B. b.* Sur dix mères testées de la même façon, trois fois les cultures sont positives.

On peut trouver *B. b.* en plus ou moins grande proportion dans *l'intestin de l'enfant nourri artificiellement et même de l'adulte*: MAYER, MAASSEN et ALBERTSEN (97); ROUFOGALIS, ORLA-JENSEN, BOVENTER, ROSS (167); OLSEN, FRISELL, HAENEL (72). Sa présence semble dépendre étroitement de l'alimentation: régime lacté, riche en hydrates de carbone, pauvre en graisses et en albumines. PETUELY (140) réserve le nom de « flore bifidale spontanée » à cette prolifération de *B. b.*; il l'attribue à des conditions atmosphériques spéciales, à des variations de température, ou à des contaminations de crèche chez des enfants nourris artificiellement avec un lait dont le rapport lactose/albumine égale ou dépasse 2,6. D'après lui, l'existence de ces flores bifidales spontanées est une cause d'erreur importante dans l'expérimentation des produits bifidogènes. De ces travaux et de tous ceux plus haut cités, on peut conclure que *B. b.* fait partie des hôtes réguliers de l'intestin humain.

Ce n'est que pour mémoire que nous citerons enfin la présence de *B. b.* dans l'*intestin de certains mammifères*: chiens, rats, souris, singes. Il est évident que cette localisation accessoire du bacille n'intervient pas dans la contamination du nourrisson.

Au total, on voit que *B. b.* est beaucoup plus répandu dans la nature qu'on ne le croit généralement et qu'il est à même, lui aussi, de réaliser un cycle infectant autour du nouveau-né. Avant même la naissance, l'enfant pourrait théoriquement s'infecter par aspiration de liquide amniotique, puisque ROUFOGALIS a pu, dans quelques cas, cultiver le germe à partir de liquide amniotique aseptiquement prélevé. WALCH (206) n'a cependant pas confirmé ces résultats, et la voie amniotique reste très douteuse. Pendant la naissance, l'aspiration de mucosités vaginales et les souillures fécales d'origine maternelle représentent deux voies d'apport de *B. b.* au nouveau-né. Ainsi s'explique la présence de *B. b.* dans le tube digestif et les émissions méconiales de certains nourrissons avant toute mise au sein (BOVENTER). Mais ce sont probablement le colostrum et le lait qui représentent les principales sources de *B. b.* pour le nourrisson au sein, chez lequel les mains du personnel soignant et les contaminations de crèche ne jouent qu'un rôle secondaire. Outre le germe, le lait maternel apporte les facteurs nécessaires à sa prolifération. Chez les enfants nourris d'emblée artificiellement, il n'est pas rare de noter, dans les premiers jours, un faible pourcentage de *B. b.* dans la flore fécale, *B. b.* arrivé là, de toute évidence, par voie « extralactée »; mais faute des conditions favorables créées par le lait de femme, il végète ou disparaît. Nous avons pu vérifier ce phénomène.

— *Période de stabilisation* (transformation de la flore). Très rapidement, par contre, l'ingestion de lait maternel amène de profondes modifications de la flore intestinale. Bacilles Gram — et cocci, très nombreux dans les

selles aux environs du troisième jour, sont peu à peu refoulés par la multiplication de *B. b.* En quarante-huit heures, la substitution est quasi-terminée, et *B. b.* a conquis la prépondérance qui caractérise la selle de l'enfant nourri au sein. TISSIER, sur dix tubes de culture, trouve, dès ce moment, six *Bifidus* pour trois cocci Gram + et un *Bacterium Coli*. CORRIAL (33) numère 90 % de *B. b.* pour 6 % d'Entérocoques et 4 % d'*E. Coli*. Nos chiffres personnels (Cf tableau III) se situent à mi-distance des

TABLEAU III

Taux de *B. b.* chez dix nouveau-nés nourris au sein.

Jours	Luc.	Pou.	Man.	Weil.	Dog.	Fra.	Bra.	Gai.	Pab.	Tro.	Moyenne %
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	13	8	0	8	10	0	25	32	0	0	sur 6 : 16 %
3	20	26	15	27	25	14	50	46	10	15	sur 10:24,8 %
4	80	16	20	40	16	10	50	-	16	30	sur 9 : 31 %
5	70	42	50	40	60	12	40	35	20	28	sur 10:39,7 %
6	85	40	30	-	70	Allai-	66	70	Allai-	-	sur 6 : 60 %
7	90	55	70	60	72	tement	80	-	tement	70	sur 7 : 71 %
8	80	60	-	-	-	mixte	80	75	mixte	80	sur 5 : 75 %
9	75	-	70	80	-	"	80	90	"	85	sur 6 : 80 %
10	85	80	80	-	-	"	80	85	"	-	sur 5 : 82 %

deux : de 40 % (moyenne de nos dix nourrissons au sein) au cinquième jour, la flore bifidale passe à 70 % au septième jour, et oscille, dès lors, entre 70 et 90 %, chiffres qui ne changeront plus — sauf variations provoquées — tant que le nourrisson boira au sein. Mais la flore n'est jamais pure, malgré l'aspect uniforme des frottis de selles examinés au microscope : la culture met toujours en évidence un faible pourcentage d'autres germes — de 10 à 30 % —, habituellement Entérocoques et Colibacilles. BEERENS signale également la présence assez fréquente de *L. acidophilus* : nous n'avons pas eu l'occasion de la vérifier.

Cette stabilité suggère la présence dans le lait de femme de facteurs qui favorisent la croissance de *B. b.* au détriment des autres bactéries. Cette favorisation de la flore bifidale a été tour à tour attribuée :

- par ADAM au pH acide du lait humain,
- par BESSAU au lactose, et à l'isomère bêta du lactose par MALYOTH (102 à 104),
- par TOMARELLI, NORRIS, ROSE et GYÖRGY (200) aux acides gras non saturés,
- par BLAUROCK (20) à certains acides aminés, au premier rang desquels la cystine,
- par STRANSKY et MASLOWSKY (189) à un rapport protides/lactose très bas et par PETUELY, à un rapport lactose/protides élevé (supérieur à 2,6),
- par NICOLAU et coll. (121) à un taux faible en phosphate de chaux.

Chacune de ces interprétations a donné naissance à un aliment artificiel dont les prétentions bifidogènes n'ont pas toujours résisté aux contrôles. Les facteurs actuellement retenus comme susceptibles de promouvoir une flore bifidale — facteurs que nous étudierons plus loin en détail — sont des composés chimiques qui n'existent pas toujours à l'état libre dans le lait et dont certains — LEVESQUE (93) insiste sur ce paradoxe — peuvent être extraits du lait de vache en bien plus grande quantité que du lait de femme. C'est par la parfaite adaptation du lait maternel aux possibilités digestives du nourrisson que cet auteur explique l'instauration, la prépondérance et la stabilité de *B. b.* dans l'intestin de l'enfant nourri au sein.

— *Variations.* — La flore bifidale installée, pour stable qu'elle soit, est cependant susceptible de perturbations dont les causes ne sont pas toujours évidentes.

Chez le nourrisson au lait de vache, et même chez l'adulte au régime lacté, on peut voir s'installer, pendant un temps assez long, une « flore bifidale spontanée » (PETUELY) qui, toutefois, n'atteint jamais le degré de pureté

de la flore physiologique. A l'inverse, chez le nourrisson au sein, la flore bifidale peut être altérée, dans sa qualité ou dans son pourcentage, sans causes décelables. Ces « perturbations primitives », signalées par PETUELY, LEVESQUE, MAYER, traduisent pour ce dernier une rupture de la symbiose très sensible qui existe entre la qualité de la flore et l'état de la paroi intestinale. MAYER incrimine, dans ces cas, une « dysrégulation neurovégétative » modifiant sécrétions, motricité, perméabilité, iso-ionie de la muqueuse digestive. On peut noter, dans ces conditions, des altérations morphologiques du germe: présence de formes plus grandes et plus larges, tendance à la granulation, à la vésiculation, à la ramification. Quand tout rentre dans l'ordre, on assiste à un retour progressif aux formes normales. Ces variations ne sont spontanées que parce que leur cause exacte nous échappe; elles sont transitoires et spontanément réversibles.

Plus intéressantes à considérer sont les perturbations provoquées de la flore intestinale. Les causes les plus souvent retrouvées sont d'ordre météorologique, pathologique et thérapeutique. Des facteurs climatiques variés: brusques variations de température, foehn, sirocco, peuvent produire une diminution soudaine et durable de la quantité des germes: ADAM, BESSAU, CATEL (30), PETUELY. Une infection entérale — diarrhée banale ou entérite à germes spécifiques — ou parentérale — otite, bronchite, grippe — provoque, avant même d'être cliniquement évidente, une éradication brutale de *B. b.*, remplacé par une flore mixte à *E. Coli* et Entérocoques; à un point tel qu'une altération soudaine de la flore doit faire craindre la survenue d'une infection: *B. b.* se comporte vraiment, pour reprendre l'expression imagée de PETUELY, comme le baromètre de la santé du nourrisson.

Quant aux modifications d'origine thérapeutique, leur étude a été inaugurée par TISSIER. Administrant 10 mg de calomel en deux prises à des nourrissons au sein, il a pu constater, dans un délai moyen de 48 heures, une « ra-

réfaction de l'espèce dominante, avec apparition de formes mortes ou de formes de souffrance, et une multiplication des bactéries aérobies ». Nous avons vu plus haut le comportement de la flore bifidale chez les enfants traités par antibiotiques: seule la Streptomycine la laisse subsister. D'après FRISELL, les Sulfamides à doses moyennes ont également une nette action inhibitrice sur *B. b.*

Il s'agit donc au total d'une flore extraordinairement fragile, que les moindres influences extérieures sont susceptibles d'altérer. Et l'on peut conclure, avec LEVESQUE, que cette surprenante fragilité réduit notablement l'intérêt de *B. b.* pour l'organisme.

— *Disparition.* — En dehors de ces variations que nous venons d'envisager, il en est d'autres qui sont en étroite dépendance avec le régime alimentaire.

Les manipulations du lait de femme diminuent son pouvoir bifidogène. CATEL, PINK, BESSAU ont montré que le lait de femme tiré ne possède plus ses qualités originales. CATEL et PETUELY signalent que l'ébullition, la pasteurisation, la stérilisation entraînent la destruction du principe bifidogène. MARGET et NABER (105), par des essais *in vitro*, fixent à 60° la destruction de ce pouvoir. Pour FRISELL, le chauffage à 100° ou la pasteurisation à 68° pendant dix minutes retardent l'apparition de la flore bifidale et en diminuent le taux. MORO est d'un avis contraire: pour lui, le chauffage du lait n'a pas d'action nocive. MAYER estime que la cuisson du lait n'a aucune répercussion sur la flore, à condition qu'on évite ensuite, par refroidissement sous vide, la pullulation secondaire des bactéries lactiques.

L'adjonction au régime d'autres aliments altère également la flore. L'allaitement mixte n'est bifidogène que s'il apporte une ration de lait de femme supérieure à 200 grammes par jour pour FRISELL, comprise entre 200 et 400 grammes d'après MAYER. Pour LEVESQUE, dès que le lait de femme représente moins de la moitié de la ration,

la flore prend le type de la flore d'allaitement artificiel. C'est également l'avis de PETUELY et KRISTEN (145).

Le sevrage total amène, en quelques jours, la disparition de *B. b.*: la selle prend les caractéristiques physico-chimiques de l'allaitement artificiel. *B. b.* n'y est plus retrouvé, ou seulement à des taux très faibles et d'une manière épisodique, exception faite des flores bifidales spontanées.

— *Cas particulier du prématuré.* — BOVENTER et WALCH (206) ont trouvé, respectivement, chez trente-cinq et seize prématurés, une implantation bifidale en tous points comparable à celle des nouveau-nés à terme. Par contre SENGENHOFF (178), SEYFFARTH (180), BESSAU, MAYER s'accordent à signaler un retard notable à l'invasion par *B. b.* du tube digestif chez des prématurés bien portants: ce n'est qu'au bout de cinq ou six semaines que la qualité de la flore est aussi bonne que chez les nourrissons à terme. FRISSELL confirme ce fait: chez dix-huit enfants nés avant terme, l'accroissement du nombre de *B. b.* s'est produit avec retard et irrégularité.

Ces constatations, qui concordent avec la particulière fragilité digestive du prématuré, prouvent que l'intestin immature n'est pas parfaitement adapté au lait humain non modifié, et que celui-ci ne représente pas l'aliment idéal du grand prématuré: point de vue soutenu par de nombreux pédiatres pour des raisons d'ordre purement diététique. ROSSIER (169). Elles doivent faire écarter de l'expérimentation des aliments bifidogènes les prématurés trop jeunes ou de trop faible poids.

*
**

L'étude du cycle biologique de *B. b.* chez l'enfant nourri au sein nous a permis de préciser l'origine du germe, les facteurs qui assurent son implantation et sa prédominance, ceux qui, au contraire, l'inhibent ou le détruisent. Reste à envisager maintenant le problème capital de la signification physiologique de cette flore particulière.

2. SIGNIFICATION DE LA FLORE BIFIDALE

« Deux différences séparent, écrit GYÖRGY, le nourrisson au sein de l'enfant alimenté au lait de vache: c'est la réduction du taux de morbidité et de mortalité, et la composition de sa flore intestinale. »

De là à attribuer à cette flore spéciale la bonne santé de l'enfant au sein, il n'y avait qu'un pas, que de nombreux pédiatres ont franchi. NICOLAU exprime leur opinion en disant: « On peut admettre une relation entre la flore à *B. b.* et la santé du nourrisson. »

C'est aller un peu vite en chemin, et TISSIER était plus prudent, qui écrivait: « L'immunité de l'enfant au sein semble due à sa flore spécifique... »

Et cependant, avant d'essayer d'implanter *B. b.* dans l'intestin du nourrisson, il est nécessaire de résoudre ce problème: la flore bifidale est-elle bénéfique pour le nourrisson, et par quel mécanisme?

— *Les faits*: L'eutrophie et la résistance aux infections du nourrisson au sein sont des faits d'expérience admis par tous les pédiatres, mais c'est plus une impression subjective qu'une certitude scientifiquement établie. Et, aussi paradoxal que cela paraisse, on ne disposait jusqu'en 1951 d'aucun document statistique inattaquable sur cette importante question. C'est le mérite de ROBINSON (161) d'avoir abordé le problème sous cet angle, et les résultats de son étude, portant sur 3.266 enfants, valent d'être rapportés en deux courts tableaux.

STEWART et WESTROPP (187) en 1953, ROSS et DAVES (168) en 1954 font état de chiffres analogues en ce qui concerne les troubles digestifs. GYÖRGY affirme même la plus grande résistance des enfants au sein aux affections respiratoires d'origine virale.

Ces études objectives viennent corroborer l'impression unanime des pédiatres sur la supériorité de l'allaitement

TABLEAU IV

Relation entre alimentation, mortalité et morbidité.

Régime	Nombre d'enfants	Morbidité %	Mortalité %	Incidence de la mortalité *
Sein	971	22,34	1,02	4,6 %
Mixte	1.441	46,42	2,57	5,5 %
Artificiel	854	57,37	5,73	10 %

* Cette incidence est calculée ainsi:
$$\text{Incidence} = \frac{\text{Mortalité}}{\text{Morbidité}} \times 100.$$

TABLEAU V

Suivant la maladie en cause.

Maladie en cause	Enfants au sein		Allaitement artificiel	
	Morbidité	Incidence de mortalité	Morbidité	Incidence de mortalité
Gastro-entérite	0,61 %	0	7,84 %	8,9 %
Otite moyenne	1,23 %	0	4,56 %	1,79 %
Infections respiratoires	10,29 %	8 %	17,09 %	18,4 %

maternel pour la croissance et la bonne santé des nourrissons.

La deuxième particularité de l'allaitement naturel est la flore qu'il détermine. Y a-t-il entre ces deux faits la relation de causalité que beaucoup d'auteurs ont voulu y voir? C'est ce que nous allons essayer de déterminer, en passant en revue les hypothèses avancées par les différents chercheurs pour expliquer le rôle utile de la flore bifidale.

— *Les interprétations:* Sans en préciser le mécanisme, ADAM voit dans la prolifération de *B. b.* un phénomène d'autonettoyage, d'autopurification naturelle, protégeant

l'organisme contre la prolifération des Colibacilles exo- et endogènes. EPSTEIN et JELINEK (44-45) partagent son opinion. BESSAU, KLEINSCHMIDT, PASCHLAU (131) attribuent à *B. b.* un rôle d'indicateur du déroulement normal des processus digestifs, et de protecteur contre les putréfactions intestinales, sources de diarrhée. BESSAU en conclut que « tout ce qui favorise le *Bifidus* est aussi utile à l'enfant. »

Cet autonettoyage par refoulement des espèces pathogènes pose évidemment la question de l'*antagonisme bactérien*, question ouverte depuis TISSIER, qui avait prouvé *in vitro* le « pouvoir empêchant » de *B. b.* à l'égard de *Bacterium Coli*, de *Bacterium lactis aërogènes*, de *R. ramosum* et de *R. furcosa*. KLING démontre le pouvoir bactéricide de *B. b.* sur *Proteus* et Staphylocoque, TORREY (201) et BARKER (11) sur le bacille typhique, DELBOVE sur le bacille dysentérique. MAYER, par des cultures dans du lait stérile, prouve un effet éliminatoire de *B. b.* sur Colibacille, Pneumocoque, *Proteus* et *B. mesentericus*.

ROSENTHAL et LIEBERMANN (166), WEISS et RETTGER (210) attribuent cet effet à un lysozyme du lait de femme, qui tuerait les autres bactéries, mais respecterait *B. b.* Jamais cet effet n'a pu être mis en évidence.

D'autres auteurs, avec MORO, CONRADI (32), ont cru à l'existence d'une substance bactéricide thermolabile, de nature colloïdale, du groupe des autotoxines, sécrétée par le bacille lui-même.

Mais KLING a infirmé cette hypothèse par une rigoureuse expérimentation. Il a pu montrer que la substance empêchante était séparable des corps microbiens par centrifugation, ultrafiltrable à travers bougies Chamberland, thermostable, dialysable à travers collodion, de pH acide: cette substance perd tout pouvoir inhibiteur après neutralisation par des bases fortes. Il en conclut qu'elle est uniquement formée des acides lactique et acétique résultant de l'attaque des glucides. De fait l'optimum de

croissance des germes inhibés par *B. b.* est situé dans des zones de pH neutre ou alcalin: par exemple le bacille dysentérique meurt à pH 5,4; le bacille typhique à pH 5; le Colibacille à pH 4,6. C'est là le mécanisme profond de l'antagonisme de *B. b.* (WEINBERG). D'après ORLA-JENSEN, *B. b.* peut former, en plus des acides déjà cités, des traces d'acide propionique; d'après WEISS et RETTGER, un peu d'acide formique et d'acide butyrique.

L'acidification active du milieu intestinal par les produits de fermentation des sucres par *B. b.* réalise donc un véritable « antagonisme chimique » qui s'oppose à la prolifération des autres germes.

In vitro, nous avons pu réaliser avec DE LAVERGNE une expérience très démonstrative: nous avonsensemencé en gélose profonde à pH initialement neutre une culture pure de *B. b.* Après 48 heures, quand *B. b.* a commencé à proliférer, on réensemence dans la gélose une culture d'*E. Coli*. Au bout de quelques jours, le bloc de gélose montre une zone centrale constituée de colonies de *B. b.*; autour de cette zone, une auréole de gélose où rien ne pousse; enfin, à la périphérie, une croissance exubérante d'*E. Coli*. Le pH de la zone stérile est très acide: pH 4; par contre, pH périphérique à 6. Le Professeur RAYNAUD nous a dit avoir souvent réalisé pareille expérience avec des géloses à indicateur coloré: il démontre ainsi, de manière spectaculaire, que c'est l'acidification du milieu produite par *B. b.* qui inhibe la prolifération d'*E. Coli*. DELBOVE signale toutefois que l'alcalinisation secondaire du milieu avec une solution de carbonate de soude à 10 % ne permet pas la reprise de la culture d'*E. Coli*. Ceci parce que la gélose a été non seulement acidifiée, mais également appauvrie par la prolifération de *B. b.* Il suffit de rajouter du lactose dans la solution pour voir *E. Coli* reprendre sa croissance.

En plus de l'antagonisme chimique, il y a donc là un « antagonisme d'utilisation » du milieu, véritable compétition de croissance sur laquelle insiste GYÖRGY.

Cet antagonisme serait d'un intérêt clinique extrême si *B. b.* ne présentait pas, dans l'organisme du nourrisson, une « déroutante fragilité » (LEVESQUE), qui amène sa disparition à la moindre agression. Et contrairement à l'opinion d'ADAMEK (7) *B. b.* ne joue aucun rôle dans la prévention des infections de crèche par *E. Coli* pathogène. Nous avons eu l'occasion d'observer de telles infections chez des enfants pourtant porteurs d'une belle flore bifidale, et notre opinion rejoint celle de LAMBRECHTS (87), qui tient pour minime l'influence de l'alimentation sur la résistance aux infections par *E. Coli* pathogène.

On peut donc conclure que l'antagonisme de *B. b.* vis-à-vis d'autres espèces, antagonisme déjà signalé par TISSIER, existe certainement; qu'il est très probablement de nature chimique; qu'il ne s'exerce malheureusement qu'à l'état physiologique, la moindre perturbation exogène venant immédiatement balayer la flore bifidale.

Les capacités de *synthèse vitaminique* par la flore bifidale ont été prouvées par REICHEL (158) en 1935 et par MORELL (114) en 1938. Cependant GERBER et SCHWARTZER estiment que la synthèse de vitamine B₁ par la flore intestinale n'est d'aucun intérêt, puisque le côlon est incapable de résorber cette vitamine. Mais OPPEL (126) a pu prouver expérimentalement la résorption colique de la vitamine B₁. En outre, SCHWEIGERT et coll. (176) montrent que l'adjonction de lactose au régime des rats augmente la sécrétion urinaire des vitamines B₁ et B₂; or PETUELY affirme que le lactose produit chez le rat une flore où prédomine *B. b.*, auquel il attribue ce surcroît de synthèse vitaminique. BOVENTER, STEPP (186) ont confirmé ces faits expérimentaux; ils pensent que le taux relativement bas du lait de femme en vitamines du groupe B est compensé par la production des vitamines B₁ et B₂ par la flore spécifique. ORLA-JENSEN y ajoute la vitamine K. La meilleure digestibilité des corps gras, due à l'acidité des segments supérieurs du tractus digestif, explique

aussi une assimilation accrue des vitamines liposolubles MULLER (118).

Par ailleurs, EHRENBURG (43) a prouvé que la résorption colique des sels de calcium peu solubles est facilitée par les vitamines B, dont l'administration élève ainsi la calcémie. Ce mécanisme d'*épargne calcique*, sous la dépendance d'une synthèse vitaminique excédentaire, explique, pour une part, que le lait de femme, malgré une teneur bien plus modeste en phosphate de chaux, protège mieux que le lait de vache contre le rachitisme. Mais dans cette action antirachitique du lait de femme interviennent également la meilleure utilisation des graisses — donc de la vitamine D, liposoluble —, et le pH acide du haut tractus digestif, condition éminemment favorable à la résorption du calcium ionisé. PAUPE (134). C'est donc au moins par deux modes d'action différents que la flore bifidale favorise l'assimilation calcique :

- synthèse accrue de vitamines du groupe B, qui elles-mêmes favorisent la résorption colique des sels de calcium peu solubles ;

- acidification du milieu intestinal, qui :

- augmente l'assimilation duodénale du calcium ionisé,

- accroît la résorption des lipides et, avec eux, de la vitamine D liposoluble.

C'est bien la flore spécifique elle-même qui joue là un rôle à notre avis trop peu souligné : il ne nous semble pas exagéré de parler, à ce propos, de l'action antirachitique de *B. b.*

La même action d'*épargne* est retrouvée à propos du métabolisme *protidique*. THURAU (190) a montré en effet que la flore intestinale influe sur l'excrétion fécale des acides aminés : les enfants à flore bifidale excrètent, dans leurs selles, plus d'acides aminés que les nourrissons à flore mixte. THURAU l'explique par la néoformation, sous

l'influence de *B. b.* et à partir de produits anorganiques, d'acides aminés dont l'excès est ainsi éliminé. MAYER a réfuté cette interprétation: dosant dans des milieux de cultures pures de *B. b.*, d'*E. Coli* commun et d'*E. Coli* pathogène l'azote aminé au départ, puis après un certain temps d'incubation, il ne note aucun accroissement du taux de l'azote aminé, mais au contraire sa diminution. Cependant, l'utilisation des substances azotées et des acides aminés présents au départ est inégale suivant les espèces: dans les cultures de Colibacilles se produit une notable diminution des composés azotés; dans les cultures de *B. b.*, leur taux n'est que peu abaissé. C'est donc, pour MAYER, par la moindre utilisation des constituants protidiques pour ses besoins propres que *B. b.* réalise, par rapport à *E. Coli*, une économie de protides. Le nourrisson au sein peut ainsi couvrir ses besoins personnels avec des quantités moindres de protéines alimentaires, dont par surcroît la digestion est poussée à un stade plus avancé: d'où cet excès d'acides aminés dans les selles.

— *Conclusions:* Autonettoyage du milieu intestinal, antagonisme bactérien, synthèse vitaminique, épargne calcique et protidique, tels sont donc les effets bénéfiques attribués par les chercheurs à la prolifération de *B. b.* dans le tube digestif; effets dont la plupart, nous l'avons vu, ont été prouvés expérimentalement.

A la lumière de ces faits, nous pouvons répondre aux questions que nous posions au début de ce chapitre: y a-t-il une relation entre la flore bifidale et l'eutrophie, la résistance aux infections, la réduction des taux de morbidité et de mortalité du nourrisson au sein? Y a-t-il réellement intérêt à chercher à implanter *B. b.* dans l'intestin du nourrisson alimenté artificiellement?

De tous les auteurs qui ont abordé ce problème, deux seulement, nous l'avons vu, n'accordent aucune signification particulière à la présence de *B. b.* dans le tube digestif (LEMBKE, FREUDENBERG).

D'autres jugements, plus nuancés, admettent à la flore bifidale une valeur de témoin de bonne santé (DELBOVE, PASCHLAU). LEVESQUE souligne cependant qu'il n'y a pas de « parallélisme entre la présence ou l'absence du *Bifidus* et la survenue ou non d'accidents sévères chez le petit nourrisson ». Un nourrisson à l'allaitement mixte recevant, par exemple, un tiers de sa ration en lait de femme, garde contre la maladie une protection remarquable: or sa flore intestinale est dépourvue de *B. b.* D'après LEVESQUE, c'est donc en dehors de sa fonction bifidogène qu'il faut chercher le « principe neurophylactique » par lui décrit dans le lait de femme (95), principe probablement lié à une fraction protéique et qui met à l'abri des syndromes neurotoxiques les nourrissons élevés au sein. Il conclut qu'on peut difficilement attribuer une action directe sur la santé du nourrisson à une flore qui « s'avoue vaincue avec une telle facilité, et disparaît au moindre fléchissement de l'organisme ».

Il est vrai que la fragilité de la flore bifidale diminue singulièrement son intérêt dans la résistance aux infections. Reste l'eutrophie du nourrisson au sein qui, en dehors de toute considération bactériologique, est déjà elle-même facteur de résistance. Or la présence de *B. b.* dans le tube digestif favorise incontestablement cette eutrophie par l'intermédiaire des différentes actions métaboliques que nous avons détaillées. Ce rôle métabolique de la flore spécifique, trop souvent laissé au second plan, est pourtant primordial. MAYER déclare: « *B. b.* ne développe pas seulement une activité bactériologique antagoniste contre beaucoup de germes intestinaux pathogènes pour le nourrisson, mais assure aussi un rôle actif dans le métabolisme du nourrisson ». Nous sommes quant à nous persuadé que, dans la parfaite adaptation du lait de femme aux possibilités digestives du nourrisson la flore bifidale joue un rôle important: sa présence ne signe pas seulement le déroulement satisfaisant des processus d'assimilation, elle y contribue activement. C'est dans ce sens

que nous croyons pouvoir répondre: *B. b.* ne joue aucun rôle *direct* dans la résistance du nourrisson aux infections; il est certainement responsable *pour une part* de l'eutrophie du nourrisson.

Son implantation dans l'intestin des enfants nourris artificiellement est donc désirable, dans le but de favoriser leur bon équilibre digestif. Cette colonisation aura d'ailleurs pour effet de clarifier une question « encore voilée de mystère ». (GYÖRGY). PETUELY et MAYER y insistent: c'est seulement chez l'enfant nourri artificiellement que l'implantation régulière d'une flore bifidale permettra de résoudre complètement et définitivement le problème de l'utilité de *B. b.* pour le nourrisson.

II. — ÉTUDE DES FACTEURS
QUI CONDITIONNENT L'IMPLANTATION
ET LA SURVIE DE *B. b.*
CHEZ L'ENFANT NOURRI ARTIFICIELLEMENT

I. INTRODUCTION ET GÉNÉRALITÉS

Là encore, c'est TISSIER (194) qui ouvrit la voie, en administrant à des sujets atteints de diarrhée des bouillons de culture de *Bifidus*, dans le but de supplanter la flore intestinale pathogène. De nombreux essais de ce genre ont été effectués depuis, parmi lesquels il convient de citer — parce que tout récents — ceux de MAYER et de LEVESQUE. MAYER a mis au point un lait acidifié, lactosé à 6,5 %, auquel il inocule stérilement, immédiatement avant l'ingestion, des cultures de *B. b.*, à raison de 5 à 10 % du volume total. De ce lait nommé *Bifidum*, on peut rapprocher le lait diététique *Eugalan* des usines TÖPFER, lui aussi enrichi en *B. b.* vivants. Ces deux aliments provoquent régulièrement une belle croissance bifidale. LEVESQUE (94), par l'administration à des nourrissons de cultures lyophilisées de *B. b.* à doses modérées (10 millions de germes par jour) obtient en deux à trois jours, sans aucun régime spécial, des résultats analogues. Mais, comme il le souligne lui-même, cette méthode ne résout pas le problème. Elle ne reproduit pas ce qu'on observe au cours de l'allaitement maternel: elle n'est pas physiologique.

Par ailleurs, ces techniques sont d'une mise en œuvre délicate; elles ne peuvent être exploitées sur le plan de la diététique industrielle soumise, on le sait, à des pres-

criptions légales très rigoureuses qui s'opposent à toute adjonction de nature bactérienne. Nous n'en parlerons donc pas davantage.

Plus intéressantes sont les mesures d'ordre diététique destinées à modifier les aliments pour les rendre bifidogènes. SITTLER (181) en 1908, ajoutant 5 % de lactose à du lait de vache demi-écrémé, obtient, inconstamment, une flore bifidale presque pure. Son travail est le premier de toute une série où l'effet bifidogène du lait de femme fut attribué successivement à un taux élevé de lactose, à certains dérivés de ce sucre, à son isomère bêta. Et bien que le lactose ne soit pas un facteur bifidogène, il a été à la base de tant de préparations que nous lui consacrerons un bref exposé.

SCHÖNFELD (174), dès 1926, met en doute le rôle du lactose et attribue l'effet bifidogène du lait de femme — effet retrouvé par lui dans le lait écrémé et désalbuminé — à une substance ou à un groupe de substances spécifiques. Ses travaux, qui introduisent la notion de « facteur *Bifidus* », furent vivement critiqués à l'époque, et tombèrent dans un oubli injustifié...

Il faut en effet attendre 1948 pour voir réapparaître l'idée d'une « substance fonctionnelle » apte à promouvoir *in vivo* la pullulation de *B. b.* Cette substance, c'est le lactulose de PETUELY, dont nous reparlerons plus loin.

Ensuite, sous l'impulsion de GYÖRGY en Amérique et de KUHN en Allemagne, l'attention est de nouveau attirée vers les oligosaccharides du lait de femme dont certains, sous forme de composés azotés, se montrent capables de favoriser, au laboratoire comme en clinique, la croissance de la variante *Pen*.

L'étape la plus récente est celle de RAYNAUD dont le facteur, non encore précisé chimiquement, dériverait de l'action de certains enzymes digestifs sur les protéines du lait. C'est ce facteur, actuellement obtenu par l'action amylasique d'*Aspergillus Orizae*, que nous avons pu expérimenter.

Cependant, avant de commercer l'étude analytique des substances réputées bifidogènes, il nous semble utile de préciser les conditions qu'un aliment doit remplir pour mériter ce qualificatif. Nous verrons que bien peu résistent à ces critères, posés dès 1937 par BESSAU et récemment rappelés par PETUELY.

1) On ne doit faire entrer en ligne de compte que des nourrissons bien portants. LEVESQUE insiste cependant pour que les enfants en expérience soient des tout petits, âgés de moins de cinq mois, et soumis à l'alimentation exclusivement lactée: « réactif biologique particulièrement sensible aux moindres déséquilibres ou imperfections d'un régime ». D'après lui, l'oubli trop fréquent de cette précaution est source de résultats erronés.

2) Il faut opérer sur cinq nourrissons au moins, et si possible dix, avec un nombre équivalent de témoins. Ceci permet d'éliminer les variations dues à des perturbations atmosphériques ou à des contaminations accidentelles et qui, indépendantes du régime, se retrouvent aussi bien chez les nourrissons témoins que chez les enfants en expérience.

3) A ces critères, il convient d'en ajouter un troisième, d'ordre technique. De trop nombreux travaux reposent sur la simple lecture d'un frottis de selles coloré au Gram, sans culture. PETUELY critique d'ailleurs la méthode des cultures, qui ne tient pas compte des germes morts; il estime qu'un observateur « suffisamment entraîné », par la seule inspection d'un étalement, peut évaluer avec une « erreur minime » le contenu en bacilles G + de la selle examinée; ces bacilles G + sont « le plus souvent » des *B. b.* Se contenter d'une telle estimation représente une erreur bactériologique certaine: seule la culture permet une identification rigoureuse. Bien sûr, elle ne saisit pas tous les germes présents dans la selle avec leurs pourcentages respectifs: mais en repiquant un grand nombre de colonies choisies au hasard, en utilisant un milieu riche qui n'inhibe aucune espèce, on obtient certainement une

approximation numérique aussi valable que l'estimation sur lame, et inattaquable au point de vue bactériologique. Nous exposerons plus loin la technique que nous avons personnellement utilisée. Répétons simplement avec LEVESQUE que, dans l'étude d'une flore intestinale, un ensementement des selles et une identification des espèces sont indispensables.

4) Dans ces conditions, « est bifidogène tout aliment ou supplément d'aliment susceptible de provoquer chez des nourrissons alimentés artificiellement, l'apparition en l'espace de 24 à 96 heures, d'une flore fécale analogue à celle des enfants nourris au sein » (PETUELY).

A la lumière de ces précisions, nous pouvons maintenant envisager rapidement la constitution chimique, les propriétés, la mise en œuvre pratique et les effets des substances qui ont été successivement décrites comme bifidogènes: lactose et ses dérivés, lactulose de PETUELY, facteur *Pen* de GYÖRGY et enfin facteur de RAYNAUD.

2. ÉTUDE DES FACTEURS BIFIDUS

a) *Le lactose et ses dérivés.* — A la suite de SITTLER, de nombreux auteurs ont attribué au lactose la propriété de produire une prolifération de *B. b.* BAHRDT et BELFELD (9), DISTASO et SCHILLER (39), ADAM. Mais rapidement les avis divergent sur la quantité de lactose nécessaire à cet effet. GERSTLEY et coll. (53), testant diverses préparations dont le taux de lactose varie de 3 à 12 %, ne trouvent une flore Gram + qu'avec ce dernier taux. BESSAU estime que les 7 % de lactose du lait de femme sont suffisants à cause du transit rapide de l'enfant nourri au sein; par contre, en cas d'allaitement artificiel, le taux doit être d'au moins 10 %. BESSAU préconise même de caraméliser le lactose, dans le but d'en retarder la résorption intestinale pour qu'une quantité plus importante arrive au côlon, et y favorise la pullulation de *B. b.*

Se référant au lait de femme, où le lactose est surtout présent sous sa forme isomérique bêta: 67 % de bêta lactose pour 33 % d'alpha, d'après HABILD (71), MALYOTH (98-102-104) pense que c'est le bêta lactose qui est bifidogène. Le lait préparé sur ses indications, et commercialisé en Allemagne sous le nom d' « Alete Frühnarung », donne des résultats positifs à certains auteurs, parmi lesquels DUSTERWALD et coll. (42), KLEINSCHMIDT, DELTHIL (36). Cependant, si le lactose bêta semble meilleur au goût, et mieux toléré à fortes concentrations que la forme alpha, le phénomène physico-chimique connu sous le nom de « mutarotation » des sucres vient contredire l'opinion de MALYOTH: quelle que soit la forme d'administration du lactose, les sucs digestifs déterminent rapidement une mutarotation qui établit un équilibre entre les deux formes isomériques. Il n'est donc pas étonnant que FRISELL, PETUELY et MAYER entre autres, n'aient trouvé au bêta lactose aucune action bifidogène. LEVESQUE, quant à lui, trouve à ce lait un faible pouvoir bifidogène, mais indépendant du bêta lactose puisque la sup-

pression de ce sucre laisse persister cette discrète action favorable, due en réalité à un dextrine maltose spécial obtenu par l'action fermentative d'*Aspergillus orizae*.

En 1930 et 1933, POLONOVSKI et LESPAGNOL (148 à 151) déclarent avoir isolé du lait de femme deux oligosaccharides dérivés du lactose, qu'ils nomment gynolactose et allolactose. Certains auteurs se sont demandé si le pouvoir bifidogène du lactose n'était pas lié à ces deux sucres. Mais, comme l'ont montré KUHN, BAER et GAUHE (83), ces sucres ne se trouvent pas à l'état libre dans le lait de femme: ils dérivent de la fermentation du lactose par certaines bactéries ou par les enzymes digestifs du veau. Le tube digestif du nourrisson, par contre, est incapable de les extraire du lactose. Les chimistes français, en remarquant que leur gynolactose était accompagné d'une substance azotée — à laquelle ils n'attachèrent pas d'importance — ont cependant attiré l'attention sur les oligosaccharides azotés du lait de femme, source du facteur *Bifidus* de GYÖRGY et KUHN.

Pour expliquer les divergences concernant le rôle du lactose, ADAM soutient, dès 1921, que la naissance de *B. b.* n'est pas liée à un facteur diététique unique, mais à une somme de facteurs, parmi lesquels une réduction du taux de la caséine et du phosphate de chaux, et une adjonction de cystine. Analysant les différentes préparations issues de cette hypothèse, PETUELY ne trouve des résultats positifs qu'avec celles où le rapport Lactose/Albumine excède 2,6. C'est le cas du lait *Humana*, expérimenté par LEMKE (91) et BERGER, et du lait *Correla*. Mais ces résultats sont inconstants. Dans le but d'éliminer l'effet inhibiteur des acides gras volatils du lait de vache, TOMARELLI, puis HASSINEN et coll. remplacent ces graisses par des huiles végétales riches en acides gras non saturés: acide linoléique et linolénique. Le lait qui en résulte, enrichi en bêta lactose et en cystine est commercialisé aux U. S. A. sous le nom de S. M. A. D'après LEVESQUE, il serait bifidogène *in vitro*, mais parfois assez

mal toléré. L'équivalent français du S. M. A. n'a donné lieu, à notre connaissance, qu'à une expérimentation bactériologique sur des jeunes chiens (CORRIAL).

Il faut interpréter avec une extrême prudence les résultats obtenus avec des laits modifiés dans leurs divers constituants (sucres, protéines, graisses). Quant au lactose seul, il semble incapable, sous quelque forme que ce soit, de promouvoir une flore bifidale.

b) *Le lactulose de PETUELY*. — Reprenant les idées de SCHÖNFELD sur l'existence d'une « substance fonctionnelle » du lait de femme, PETUELY a entrepris de préciser à quelle fraction du lait appartenait cette substance, et quelle était sa structure chimique.

Traitant d'une manière semi-industrielle de grandes quantités de lait de femme, il a pu prouver que ni l'élimination des graisses par centrifugation et extraction à l'éther, ni l'élimination de l'albumine par l'alcool ou l'oxyde ferreux dialysé, ni l'ablation du lactose par cristallisation fractionnée ne diminuent sensiblement le pouvoir bifidogène de ce lait. A ce stade, les préparations de lait ne contiennent plus que des sels minéraux, de faibles traces de lactose et des oligosaccharides. L'élimination, en un temps ultérieur, des sels minéraux, et l'extraction des sucres par chromatographie sur colonnes de cellulose permettent à PETUELY d'attribuer l'effet bifidogène à un dérivé cétonique du lactose, le bêta galactosidofructose ou Lactulose.

Ajouté à la proportion de 1 à 1,5 gramme par kilogramme de poids et par jour à un aliment quelconque, le Lactulose produit une pullulation de *B. b.* en un à quatre jours, à condition que le régime comporte un rapport Lactose/Albumine égal ou supérieur à 2,6. PETUELY a essayé son « Bifidus Faktor » chez plus de trois cents nourrissons avec, dans tous les cas, une excellente tolérance, des selles dont l'aspect se rapproche des selles d'en-

fantés nourris au sein, et où *B. b.* est largement prédominant.

Cependant, le Lactulose, de l'aveu même de PETUELY, n'est pas le facteur *Bifidus* du lait de femme: il n'existe pas à l'état libre dans le lait; il est inefficace *in vitro* sur la croissance de *B. b.* C'est pourquoi RAYNAUD propose de l'appeler non pas facteur *Bifidus*, mais « facteur bifidogène de PETUELY ».

L'auteur avait d'abord pensé que le Lactulose était bifidogène parce que, plus résistant que le lactose à la dégradation par les lactases du tube digestif, il arrivait en forte quantité au niveau du côlon, où *B. b.* pouvait l'utiliser pour sa croissance. Mais jamais il n'a pu démontrer, *in vitro*, que le lactulose se comportait comme un facteur de croissance pour *B. b.* C'est donc par « une action favorable sur l'organisme du nourrisson, qui opère alors de lui-même la culture pure du *Bifidus* » que PETUELY explique actuellement l'effet bifidogène de son facteur.

MAYER et KUNDRATITZ (86) ont pu confirmer l'action du lactulose de PETUELY, même dans des conditions défavorables: lactulose additionné à du lait sans lactose.

Le lactulose est commercialisé en Allemagne sous le nom de *Bifiterlose*. Son adjonction à un régime lacté est susceptible, d'après PETUELY, de provoquer même chez l'adulte l'éclosion de la flore bifidale.

c) *Le facteur Bifidus I* de GYÖRGY ne représente pas, lui non plus, un facteur *Bifidus* « sensu stricto », puisqu'il favorise la croissance d'un mutant spécial de *B. b.*, la *Pen Var* de GYÖRGY.

On se rappelle comment l'auteur isola cette variante particulière, initialement nommée 212 A, à partir des selles d'un nourrisson au sein dont la flore bifidale ne poussait que peu sur les milieux ordinaires, mais présentait un supplément de croissance par adjonction de lait de femme. Le lait de vache, par contre, se montrait doué d'une faible activité.

En testant un grand nombre de substances organiques, GYÖRGY et coll. ont pu classer, par ordre d'activité décroissante, le colostrum humain, le colostrum de ratte, le colostrum de vache. Des sécrétions variées: sperme humain, mucus utérin, suc gastrique (même en cas d'anémie pernicieuse), salive, liquide amniotique, larmes, méconium, substances purifiées de groupes sanguins contiennent également des quantités considérables de ce facteur de croissance. Et GYÖRGY voit, dans la haute teneur du colostrum et du méconium en « facteur *Pen* », un élément susceptible d'expliquer la rapide implantation de *B. b.* dans l'intestin du nouveau-né.

Ces substances d'origine naturelle sont toutes des polyosides contenant de la N. acétyl d-glucosamine. Or les patientes recherches de TOMARELLI (196 à 200), ROSE (163 à 165), ZILLIKEN (212-213), GYÖRGY (60 à 70), KUHN (81 à 85) et MONTREUIL (113) sur le fractionnement des sucres du lait de femme ont amené à la découverte d'oligosaccharides azotés dont certains, testés *in vitro* par le « Pen Var Test », se sont montrés aptes à favoriser la croissance de *L. B. Var Pen*. « La seule relation chimique entre tous ces corps, c'est le fait qu'ils contiennent la N. acétyl d Glucosamine; cette dernière a cependant une activité plus faible que les corps qui la contiennent » (RAYNAUD).

Le facteur I de GYÖRGY, qu'on peut considérer comme un polyoside contenant de la N. acétyl d-glucosamine, ne peut être extrait que des produits organiques mentionnés ci-dessus, ce qui en restreint l'intérêt pratique. L'auteur a pu cependant l'expérimenter cliniquement, après addition au lait de vache où le rapport entre protides et sucres a été préalablement rapproché de celui du lait de femme. GYÖRGY signale, dans ces conditions, une « exaltation tangible » de la flore bifidale où la Variante *Pen* peut être aisément reconnue; cette variante peut d'ailleurs muter assez facilement en souches régulières de *B. b.*

De nombreux oligosaccharides azotés obtenus par syn-

thèse, ou par dégradation enzymatique des sucres, ont été testés *in vitro*. Parmi eux, le bêta éthyl N acétyl D glucosaminide synthétisé par KUHN et KIRSCHENLOHR (84) s'est montré particulièrement bifidogène *in vitro*. Ce produit, le N 180, a été expérimenté en clinique par WALCH (207), en adjonction, à raison de 50 mg %, à du lait de vache demi-écrémé ou à du lait *Humana*. Dans les deux cas, WALCH constate une croissance bifidale pouvant atteindre 90 % de la flore. Malheureusement, ses résultats sont obtenus par simple examen de frottis, et l'auteur ne précise pas s'il s'agit de *B. b.* ou de sa variété *Pen*.

Un autre essai clinique inspiré du même principe est celui de VIANELLO et BARATELLA (205) dont le *Dodelar* est un lait acidifié demi-écrémé enrichi en vitamine B12 et en mucine gastrique de porc, à raison de 120 mg %. Il ne détermine « ni le virage vers l'acidité du pH fécal, ni une nette déviation vers une flore Gram + ». Ce résultat négatif s'explique peut-être par l'incapacité des nourrissons à hydrolyser la mucine gastrique pour en extraire la N acétyl glucosamine.

d) *Le facteur Bifidus II* de RAYNAUD. — « Pour présenter une croissance optima, certaines souches de *L. B. Var. Pen* requièrent un facteur supplémentaire présent dans le lait de femme, le lait de vache, l'insuline et les extraits pancréatiques. Ce facteur supplémentaire peut être considéré comme un composé de grosses molécules non dialysables: c'est probablement une protéine voisine de la streptogénine ». C'est en ces termes que GYÖRGY reconnaît l'existence d'un facteur de croissance distinct des oligosaccharides azotés. Il s'agit en réalité du facteur *Bifidus II*, dont l'étude a été menée parallèlement, depuis 1954. *in vitro* par RAYNAUD au Service des Anaérobies de l'Institut Pasteur et *in vivo* par LEVESQUE chez des nourrissons hospitalisés à la Salpêtrière.

La souche originale de TISSIER, conservée à l'Institut Pasteur et les souches standard type TISSIER ont besoin

de ce facteur qui, ajouté en proportions données à un milieu minimal — à base d'hydrolysats de caséine sans vitamines —, détermine une croissance de *B. b.* aisément dosable par l'acidification du milieu. RAYNAUD a pu ainsi définir une unité de facteur *Bifidus II*. Il a également montré que son facteur est différent du *Pen* facteur de GYÖRGY, de toutes les vitamines connues à ce jour, et de la streptogénine.

« Les sources naturelles du facteur *Bifidus II* sont assez pauvres. Les seuls produits riches sont les hydrolysats enzymatiques de protéines » (RAYNAUD). Le lait frais de femme a une teneur assez faible en facteur II: de 0,1 à 1 unité/cm³. Les mélanges de laits provenant de plusieurs nourrices et les laits lypophilisés sont sensiblement plus riches: de 20 à 100 unités/cm³, alors qu'il faut 10.000 unités quotidiennes pour une implantation honorable, et 20.000 pour une implantation forte (LEVESQUE). Une courte digestion par la papaïne augmente notablement le taux en facteur II de tous les laits examinés, et RAYNAUD pense que « le facteur *Bifidus II* ne préexiste pas dans le lait de femme à son émission, mais prendrait naissance sous l'influence de protéases d'origine microbienne ou autre ».

Ce facteur II obtenu par l'action de diverses protéases — trypsine, pepsine, papaïne, subtilisine — sur la caséine est probablement de nature peptidique. Le travail fondamental de RAYNAUD (157) fournit, sur son origine, sa nature, son activité, son originalité biochimique tous les renseignements désirables. Nous y renvoyons donc le lecteur.

La mise en œuvre du facteur *Bifidus II* peut être réalisée de diverses façons. C'est ainsi que LEVESQUE (94) a étudié successivement l'action d'hydrolysats de foie de veau papaïné et de deux hydrolysats de caséine obtenus l'un par action enzymatique de la trypsine, l'autre par la papaïne. L'hydrolysat de foie de veau papaïné, difficile à faire accepter au nourrisson, s'est cependant montré rapidement et

hautement bifidogène. Les hydrolysats enzymatiques de caséine — principalement ceux obtenus par papainisation — ont également donné des résultats positifs chez quatre nourrissons.

Mais pour des raisons de goût et de facilité de préparation industrielle, c'est l'adjonction d'un sucre spécial qui s'est révélée le moyen le meilleur d'enrichir un lait en facteur *Bifidus II*: il s'agit d'un dextrine maltose obtenu par l'action amylasique d'*Aspergillus orizae*. D'après LEVESQUE, l'administration directe de cultures d'*Aspergillus orizae* est mal tolérée au point de vue digestif, quoique hautement efficace. Par contre, l'addition de 5 % de dextrine maltose d'*Aspergillus orizae* à un lait acidifié à l'acide citrique donne un mélange parfaitement supporté et qui, chez trois nourrissons, s'est révélé rapidement et fortement bifidogène: taux moyen de 70 % en quelques jours.

C'est un lait ainsi préparé que nous avons pu expérimenter, au double point de vue clinique et bactériologique. Les résultats que nous avons obtenus vont faire l'objet de la troisième partie de cette étude.

TROISIÈME PARTIE

EXPÉRIMENTATION PERSONNELLE

I. — MÉTHODES D'ÉTUDE

La colonisation de l'intestin par *B. b.* nous semble donc bénéfique pour l'enfant nourri artificiellement. C'est pourquoi nous avons expérimenté, du double point de vue clinique et bactériologique, un aliment à visées bifidogènes destiné à l'alimentation du nouveau-né et du jeune nourrisson. Ceci dans le but de contrôler la réalité de l'apparition de *B. b.* dans les selles, la bonne tolérance et l'effet favorable sur la croissance de cette préparation. Nous avons utilisé un lait acidifié au jus de citron, sucré au saccharose et au dextrine-maltose obtenu par l'action amylasique d'*Aspergillus Orizae*, dont la formule à pouvoir bifidogène stabilisé sera prochainement commercialisée. Mais avant d'exposer le détail des résultats obtenus avec trois lots différents du lait expérimenté, il nous paraît indispensable de préciser la technique de notre étude.

1) *L'expérimentation clinique* a porté sur deux catégories d'enfants: nourrissons bien portants suivis régulièrement à la Consultation extérieure de l'Hôpital et enfants choisis au hasard des admissions parmi les nourrissons sains de la Pouponnière dépositaire de l'Assistance Publique. Dans tous les cas, il s'est agi d'enfants de moins de trois mois, soumis à une alimentation exclusivement lactée. Dans la deuxième catégorie, nous avons rencontré assez souvent soit des nouveau-nés, soit des nourrissons âgés de quelques semaines, prématurés ou débiles pesant moins de trois kilogrammes, soit enfin des enfants un peu plus grands, hy-

potrophiqnes ou convalescents d'affections pulmonaires, digestives ou infectieuses. Nous ne les avons évidemment pas écartés de notre sélection, répondant ainsi à l'exigence formulée par LEVESQUE « d'un choix de nourrissons tout petits et très sensibles ».

La surveillance clinique a porté sur la courbe de poids, le nombre et l'aspect des selles, les troubles digestifs éventuels, l'état du siège. Parmi les enfants de la Pouponnière dépositaire, quelques affections intercurrentes — lot de tout élevage collectif — ont été observées en cours d'expérimentation. Elles n'ont amené aucun changement de régime, et, après mise à la diète chaque fois que nécessaire, ces nourrissons ont été réalimentés au lait bifidogène. Ce sont ces incidents infectieux qui nous ont donné l'occasion d'étudier l'action des antibiotiques sur la flore bifidale (cf tableau II).

2) *Technique bactériologique*: Pour des raisons faciles à comprendre, seuls les nourrissons en dépôt à la Pouponnière de l'Assistance ont pu être régulièrement suivis à ce point de vue. Notre expérimentation bactériologique est donc plus réduite que la série clinique. Les selles, recueillies quotidiennement au début de la nouvelle alimentation, puis une fois par semaine ensuite, ont été étudiées suivant le protocole détaillé ci-dessous.

La technique de recueil est très importante. Mêlées d'urines, les selles voient leur pH rapidement modifié, et la stagnation dans les langes altère vite la flore spécifique. Nous avons toujours prélevé les selles *in situ*, soit par introduction d'un thermomètre (procédé habituellement suffisant), soit par toucher rectal.

De la selle ainsi obtenue, il est fait immédiatement un étalement sur lame et une émulsion en eau physiologique stérile. L'étalement sur lame, coloré par la méthode de GRAM, donne une idée qualitative de la flore intestinale, mais ne permet en aucun cas une estimation quantitative, même approximative, des différentes espèces. L'émulsion

en eau physiologique (1 gramme de selles environ pour 10 cc d'eau) est dilué 5 fois consécutives au 1/10 dans de l'eau physiologique stérile, si bien que 1 cc de la dilution finale représente environ 1/100.000 de gramme de la selle. Sur l'émulsion initiale, le pH est déterminé par la méthode électrométrique (pH mètre MECI). Dans la dilution finale, on trempe une pipette Pasteur à extrémité fermée; cette pipette est ensuite successivement agitée, sans être rechargée, dans 10 tubes remplis de milieu de BLAUROCK modifié et solide, préalablement liquéfié par ébullition et refroidi à 40°. Les tubes sont aussitôt replongés dans l'eau froide, où la gélose reprend rapidement sa consistance solide. Ces tubes de « gélose profonde » sont conservés quatre jours à l'étuve à 38°, puis sectionnés. On prélève à la pipette Pasteur des colonies isolées, qui sont immédiatement réensemencées dans le compartiment inférieur d'un tube de HALL rempli de milieu de BLAUROCK liquide.

Avec chaque selle, on ensemence ainsi 12 tubes de HALL. Après quatre jours d'étuve à 38°, on procède à la lecture finale, après étalement sur lame et coloration au Gram d'une goutte de chaque culture liquide prélevée stérilement. Le pourcentage des différentes espèces (bacilles Gram +, cocci Gram +, bacilles Gram —) est établi par l'addition des résultats. Si, à la suite d'un prélèvement difficile en gélose profonde, deux colonies différentes poussent dans le même tube de Hall, cette culture mixte est comptée pour deux colonies. Les bacilles Gram +, anaérobies stricts et non sporulés, donnent ensuite lieu à une identification complète dont nous avons donné le détail dans la première partie. C'est d'après les résultats de cette échelle d'identification que l'on établit le pourcentage final de *B. b.* dans la selle examinée.

II. — RÉSULTATS

Nous les avons groupés en trois chapitres correspondant chacun à un lot différent du produit bifidogène, lots désignés conventionnellement sous les rubriques H5 - H7 - H10.

1) H5. — Il s'agit d'un lait en poudre, 1/3 écrémé, acidifié à l'acide citrique naturel du jus de citron, sucré au saccharose et à l'alpha dextrine maltose. C'est ce dernier sucre, obtenu par l'action amylasique d'*Aspergillus Orizae*, qui représente l'apport en facteur *Bifidus II*. H5 titre 10 unités/cm³ de facteur.

H5 se reconstitue à 40°, à raison de 17,5 g de poudre pour 87,5 d'eau. Nous l'avons administré aux nourrissons suivant le schéma généralement adopté pour l'alimentation du premier âge, c'est-à-dire reconstitué au 1/2 pour les 10 premiers jours de la vie (une mesurette de 5 g pour 50 g d'eau), au 1/3 pour la deuxième décade (une mesurette pour 37,5 g d'eau), au 1/4 dans le courant de la quatrième semaine (une mesurette pour 33 g), enfin à reconstitution entière à partir de l'âge d'un mois (une mesurette pour 25 g).

a) *Résultats cliniques*: Ils ont été excellents dans les deux catégories d'enfants suivis.

En consultation de nourrissons, douze enfants du premier trimestre ont reçu H5 pendant une période variant de 45 jours à 3 mois. Tous ont présenté une croissance régulière, sans aucun trouble digestif imputable au nouveau lait. Sur ces douze enfants, la prise de poids journalière moyenne a été:

1 fois de 48 grammes (il s'agissait d'un nourrisson initialement débile),

7 fois de 25 à 30 grammes,

3 fois de 20 à 25 grammes,

1 fois de 18 grammes (chez un enfant vomisseur habituel par béance du cardia).

Nous n'avons noté ni diarrhée, ni érythème fessier.

Aucun contrôle bactériologique n'a été effectué dans cette série.

A la Pouponnière dépositaire, nous nous sommes adressé à dessein à des nourrissons beaucoup plus fragiles. Notre série comprend douze nourrissons, dont sept âgés de moins d'un mois au début de l'expérimentation. De ces douze enfants, sept pesaient initialement moins de 3 kg. En cours d'observation, quatre enfants ont présenté de la diarrhée dont deux par infection de crèche à *E. Coli* pathogène. Après diète hydrique et soupe de carottes, ils ont pu être réalimentés directement à l'H5, sans aliment de transition; ils n'ont pas rechuté.

Le nombre de selles a été en moyenne de deux à trois par jour; souvent de consistance semi-liquide, parfois grumeleuses, d'odeur acide, de coloration jaunâtre, ces selles n'ont jamais, toutefois, présenté l'aspect caractéristique des selles de lait de femme. Nous n'avons observé d'érythème fessier que chez les nourrissons ayant eu des troubles digestifs — érythème banal qui a d'ailleurs guéri rapidement —.

Dans tous les cas, même ceux où se sont produits, en cours d'observation, des troubles digestifs, otitiques, ou infectieux (3 varicelles, une pneumopathie infectieuse sévère avec atélectasie), la courbe pondérale a été excellente — cf tableau VI où figurent âge et poids en début d'observation et gain pondéral quotidien. On y verra que, pour les neuf premiers enfants, ce gain a été de 24 à 28 g dans quatre cas, de 30 à 37 g dans quatre cas, de 48 g dans un cas. Les trois dernières observations concernent

TABLEAU VI

Evolution clinique des enfants nourris au lait H5

Nom	Age initial	Poids initial	Durée d'observation	Gain pondéral	Moyenne journalière	Observations
Slo	2 m.	4.000 g	24 j.	900 g	37 g	Varicelle en cours d'observation. Pas de troubles digestifs
Nég	2 m.	4.250 g	54 j.	1300 g	24 g	Pneumopathie infectieuse avec atelectasie, puis varicelle en fin d'obs. Bonne évolution.
Dro	2 m.	2.700 g	32 j.	1000 g	31 g	Prématuré triplé. Varicelle banale en cours d'observation
Mih	2 m.	4.350 g	20 j.	680 g	34 g	-
Bou	11 j.	2.800 g	33 j.	1600 g	48 g	-
Fis	1 m.	2.600 g	56 j.	1400 g	25 g	-
Cor	8 j.	2.500 g	60 j.	1600 g	27 g	Gastro-entérite à E. Coli 55 B5 en début d'observation. Bonne évolution
Fab	8 j.	2.300 g	60 j.	1700 g	28 g	Selles liquides pendant quelques jours. Diète et réalimentation. R à S ensuite.
Cun	10 j.	3.250 g	40 j.	1200 g	30 g	-
Péc	10 j.	3.450 g	22 j.	400 g	18 g (1er mois)	Gastro-entérite à E. Coli 55 B5 en début d'observation. Bonne évolution.
Gér	1 j.	2.250 g	30 j.	650 g	21 g (1er mois)	Jumeau prématuré. Otite supprimée avec diarrhée en fin d'obs
Mir	1 j.	2.500 g	37 j.	750 g	20 g (1er mois)	Jumeau prématuré.

TABLEAU VII

Taux de B. b. dans les selles des enfants nourris à l'H5

Jours	Slo.	Nég.	Dro.	Mih.	Bou.	Fis.	Cor.	Fab.	Cun.	Péc.	Gér.	Mir.	Moyennes
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	10	0	18	12	0	10	10	0	10	10	6,6 %
3	10	0	20	0	30	18	0	13	20	10	0	0	10 %
4	20	10	40	10	30	25	0	20	30	0	20	10	18 %
5	20	0	50	25	40	30	10	20	30	0	0	20	20,4 %
6	30	20	40	30	40	55	20	30	40	30	10	26	31 %
7	30	30	30	40	66	-	30	50	66	35	20	33	sur 11 : 39 %
14	40	50	-	-	50	40	-	-	-	30	10	40	sur 7 : 37 %
21	40	40	30	-	-	40	50	-	40	40	10	-	sur 8 : 36,2 %

des enfants suivis seulement pendant leur premier mois, et la moyenne journalière fut ici plus faible — de 18 à 21 g — à cause de la perte de poids néo-natale physiologique.

Exposés, en élevage collectif, à de nombreux contages infectieux, nos nourrissons ne nous ont pas paru présenter une résistance aux infections supérieure à celle des autres enfants. Il faut noter toutefois que, malgré leur gravité initiale, ces affections intercurrentes ont guéri rapidement et simplement, sans modifier la courbe pondérale. Nous envisagerons plus loin, dans le détail, le cas particulier des infections gastro-intestinales à *E. Coli* pathogène.

b) *Résultats bactériologiques*: C'est là sans doute le point le plus important, puisque le nouvel aliment a été conçu et réalisé dans le but d'implanter, chez les nourrissons qui le reçoivent, une flore bifidale.

Le pourcentage de *B. b.* aux différents jours, étudié suivant la technique d'examen exposée plus haut, a été reporté sur le tableau VII. On peut y voir que *B. b.*, constamment absent en début d'expérience, commence à apparaître à un taux très faible au bout de 48 heures (moyenne 6,6 %) pour augmenter ensuite progressivement jusqu'au sixième jour, où il est présent chez tous à un taux moyen de 31 %. Dans la plupart des cas, le taux se maintient ensuite aux environs de 35 %. La même progression est retrouvée après administration d'antibiotiques: la flore bifidale, décapitée par l'antibiothérapie, remonte à ce taux moyen de 30 à 40 % en quelques jours (cf tableau II).

En dehors de *B. b.* aux pourcentages indiqués, la flore fécale des enfants nourris à l'H5 renferme des colibacilles communs — qui tendent généralement à diminuer ou même à disparaître des selles — et des entérocoques. C'est donc, au total, une flore à tendance G + qui est

mise en évidence dans la plupart des cas, ce dont rendent compte l'aspect et le pH des selles.

On sait que le lait de vache donne des selles dont le pH tend vers l'alcalinité, ce qui correspond, au point de vue bactériologique, à l'existence d'une flore à prédominance de bacilles Gram négatif, appelée « flore de putréfaction ». A l'inverse, le pH des selles d'enfants nourris au lait de femme est à tendance acide et la flore, à prédominance de *B. bifidum*, est du type « flore de fermentation ». Nous avons donc recherché (*), par la méthode électrométrique, le pH de l'émulsion de selles — d'une part chez 6 nourrissons élevés au sein, à quatre reprises différentes (jours 1, 3, 5, 7), — d'autre part chez nos 12 enfants nourris à l'H5. Chez eux, le pH a été recherché sur toutes les selles étudiées, mais nous n'avons retenu pour comparaison que les résultats aux jours 1, 3, 5, 7. Ces chiffres sont reportés sur les tableaux VIII et IX. Pour 24 mesures chez des nourrissons au sein, le pH des selles varie de 4,5 à 7,2, chiffres extrêmes, avec une moyenne de 5,81. Pour 36 déterminations chez les enfants nourris à l'H5, le pH varie de 5 à 6,6, avec une moyenne de 5,76. H5 est donc, comme le lait de femme, un lait à transit rapide, à flore de fermentation et à réaction acide.

En conclusion: l'augmentation du pourcentage de *B. b.* chez les nourrissons recevant l'H5 est statistiquement significative; elle se produit dans des délais relativement courts; elle détermine un virage vers la zone acide du pH des selles; mais la flore n'atteint jamais le degré de pureté noté chez les enfants nourris au lait de femme.

C'est pourquoi, dans un deuxième temps, nous avons expérimenté un lait plus riche que H5 en principe bifidogène: il s'agit du lot H7 que nous allons maintenant étudier.

*Nous remercions vivement M. HAN KIAKI, Ingénieur Chimiste, qui a bien voulu déterminer lui-même le pH des selles de nos nourrissons.

TABLEAU VIII

pH des selles d'enfants nourris au sein

Nom	Jour 1	Jour 3	Jour 5	Jour 7
Pou	7,1	6,6	6,1	6,2
Wei	7,2	5,8	5,5	5,6
Dog	5,5	6,4	5,4	6
Fra	6,8	5,2	4,8	5,6
Man	5,6	6	4,5	5
Bér	6	5,4	5,6	5,6

TABLEAU IX

pH des selles d'enfants nourris à l'H5

Nom	Jour 1	Jour 3	Jour 5	Jour 7
Slo	5,6	5	5,4	5,5
Nég	6	6	5,6	5,5
Dro	6,5	5,5	5,5	5,5
Mih			5,5	6,5
Bou	6,6	6,3	5,45	6
Fis	5,4	5,5		6,6
Fab	5,6	6,1	6,4	6
Cun	6,15	5,4	5,7	
Péc	5,9	5,4		5,2
Gér	5,8	5,6	5,4	5,4
Mir				5,8

2) *H7*. — C'est un lait présentant les mêmes caractéristiques physico-chimiques que *H5*, hormis le titre en facteur *Bifidus II* qui est ici de 14 unités/cm³. Le protocole suivi a été exactement le même que celui détaillé à propos du lot *H5*. Sept nourrissons de la Pouponnière dépositaire ont été nourris avec le lait *H7*, nourrissons bien portant âgés de moins d'un mois et pesant initialement, pour la plupart, moins de 4 kg.

a) *Résultats cliniques*: Ils ont été perturbés par la survenue, en cours d'expérimentation, d'une épidémie de gastro-entérite qui a touché presque tous les jeunes nourrissons de la Pouponnière, quel que soit leur régime alimentaire. Malgré des coprocultures systématiques répétées, une seule fois un germe pathogène — *E. Coli* 55 B5 — a pu être incriminé. Pour les autres cas, le diagnostic de diarrhée estivale épidémique a été retenu: l'expérimentation se déroulait pendant les jours chauds de l'été 1958. Tous les pédiatres familiarisés avec l'élevage collectif de nourrissons connaissent ces diarrhées saisonnières, dont une prophylaxie systématique a même été recommandée par certains auteurs, basée sur des moyens diététiques ou médicamenteux. Ouoi qu'il en soit, l'expérimentation de *H7* a dû être interrompue à plus ou moins brève échéance chez six nourrissons sur sept, à cause de cette diarrhée, nécessitant diète hydrique et réalimentation à la soupe de carottes ou au babeurre. On conçoit que dans ces conditions, la prise de poids ait été nulle (une fois) ou notoirement insuffisante (cinq fois).

Dans un cas par contre, la tolérance clinique a été excellente, la croissance pondérale régulière, les selles normales et bien liées, au nombre de 2 à 3 par jour. Il est à remarquer que, de toute la série, c'est l'enfant qui présentait le poids initial le plus élevé (4.350 g). Ce nourrisson a grossi régulièrement de 35 g/jour en moyenne.

b) *Résultats bactériologiques*: Les résultats de 70 études coprologiques complètes, effectuées au jour 0 et à dif-

férents jours de la nouvelle alimentation ont été reportés sur le tableau X.

TABLEAU X

Taux de B. b. dans les selles des enfants nourris à l'H7

Jours	And.	Bes.	Bou.	Col.	Mar.	Par.	Pec.
0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	10	0	—	0	0
2	Diarrhée	—	10	0	0	0	0
3	"	20	10	0	—	10	10
4	"	10	30	10	0	10	10
5	"	30	40	35	—	20	0
6	"	—	50	10	0	20	5
7	"	—	40	10	—	20	0
8	0	0	60	Diarrhée	0	—	10
9	0	20	—	"	—	10	—
10	—	—	—	"	—	—	0
11	—	0	40	"	—	20	0
12	0	10	30	"	—	—	5
14	0	20	40	"	—	20	15
21	0	20	40	"	—	—	10

On y voit que la flore bifidale, absente dans tous les cas avant la mise à l'H7, est restée absente dans deux observations (cas 1 et 5), dont l'étude a dû d'ailleurs être écourtée en raison de troubles digestifs. Elle est apparue plus ou moins précocement, mais à des taux assez faibles, et d'ailleurs inconstants dans trois autres cas: 4, 6 et 7. Le cas n° 2 a fourni un résultat moyen: taux variant irrégulièrement de 0 à 20 et 30 %. La flore bifidale ne s'est d'ailleurs pas maintenue chez ce nourrisson, qui a présenté au 22^e jour une gastro-entérite aiguë.

Seul le cas n° 3 a fourni un résultat valable: apparition rapide (dès la 24^e heure) d'une flore bifidale qui s'est maintenue ensuite à des chiffres variant de 30 à 60 % — chiffres comparables aux meilleurs cas à l'H5 —. Fait re-

marquable, il s'agit là du nourrisson dont l'évolution clinique a été excellente, ce qui souligne bien le rapport entre flore bifidale et état d'eutrophie.

Conclusion: Ne voulant pas en rester sur ces résultats médiocres, dus, à notre avis, à une de ces coïncidences fâcheuses qui rendent si délicate l'expérimentation diététique chez le nourrisson élevé en collectivité, nous avons administré de l'H7 à six nourrissons de notre consultation externe. La tolérance digestive et la prise pondérale ont été satisfaisantes, en tous points comparables à celles obtenues avec H5. Malheureusement les contrôles bactériologiques n'ont pas été possibles, et notre impression finale sur l'effet bifidogène du lait H7 ne peut se fonder que sur la seule observation favorable, au double point de vue clinique et biologique, de notre série initiale.

3) *H10.* — Cette fois, ce n'est plus d'un seul lot qu'il s'agit, mais de trois « cuissons » différentes du nouveau lait bifidogène, cuissons que nous expérimentons conjointement, sur un nombre réduit de nourrissons et depuis un temps assez court. Le titre en facteur *Bifidus* de ces trois échantillons étant très voisin — de 10 à 13 unités/cm³. — il nous a paru préférable de grouper ces résultats encore fragmentaires.

a) *Résultats cliniques:* Huit nourrissons recevant le nouvel aliment H10 depuis un délai variant de 10 à 30 jours ont été suivis en fonction des critères précisés plus haut. Les constatations cliniques s'avèrent, jusqu'à présent, très satisfaisantes (cf tableau XI); le gain pondéral moyen est de 32 g par jour, et aucun trouble digestif n'a été noté, sauf dans un cas: 3 à 4 selles semi-liquides par jour, sans altération de la courbe de poids.

b) *Résultats bactériologiques:* ils sont, là aussi, assez favorables dans tous les cas, sauf un (cf tableau XII). La

TABLEAU XI

Evolution clinique des enfants nourris au lait H10

Nom	Age initial	Poids initial	Durée d'Observation	Gain pondéral	Moyenne/jour	Observations
Mur	1 m.	3.600 g	10 j.	250 g	25 g	-
Oua	2 m.	3.000 g	15 j.	450 g	30 g	Prématuré (P.N.:2050 g)
Sou	2 m.	4.500 g	10 j.	400 g	40 g	-
Aur	1 m.	3.750 g	10 j.	350 g	35 g	-
Dah	2 m. 15 j.	3.500 g	20 j.	800 g	40 g	Prématuré (P.N.:2000g)
Dou	2 m. a	4.000 g	20 j.	600 g	30 g	3 à 4 selles par jour de consistance semi- liquide
Ore	1 m. 15 j.	4.100 g	25 j.	700 g	28 g	-
Lar	2 m. 15 j.	4.900 g	30 j.	900 g	30 g	-

TABLEAU XII

Taux de B. b. dans les selles des enfants nourris à l'H10

Jours	Sou	Aur	Oua	Dou	Ore	Lar	Moyennes
0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	5	8	6	3 %
3	10	7	0	0	8	14	6,5 %
4	15	20	7	0	10	25	13 %
5	27	30	0	0	21	12	15 %
6	30	25	7	7	22	16	18 %
7	-	30	30	10	40	30	sur 5 : 28 %
8	30	-	40	10	40	40	sur 5 : 32 %
9	-	-	-	-	50	40	sur 2 : 45 %

flore bifidale, assez lente à apparaître, croît progressivement jusqu'au taux de 28 à 30 % aux environs du septième jour. Nous n'avons pas davantage de recul, mais nous pensons que les trois lots H10 sont susceptibles de fournir une colonisation de l'intestin par *B. b.* à un pourcentage analogue à celui observé chez les enfants nourris au lait H5.

III. — COMMENTAIRES

Notre expérimentation globale, poursuivie depuis 15 mois chez quarante-cinq jeunes nourrissons, appelle quelques commentaires.

Au point de vue clinique, mise à part la diarrhée observée dans la première série d'enfants nourris à l'H7, mais qui ne s'est pas reproduite au cours d'essais ultérieurs avec le même lot, nous pouvons conclure à la bonne tolérance du nouveau lait. Se diluant facilement à 40° sans faire de grumeaux, volontiers accepté par les nourrissons, le nouvel aliment donne des courbes de croissance tout à fait satisfaisantes, particulièrement chez les prématurés et les débiles. Il suffit, pour s'en convaincre, de rappeler que la majorité des pédiatres français fixe entre 20 et 25 g la prise de poids quotidienne du premier trimestre, chiffre que nos nourrissons ont largement dépassé dans la plupart des cas.

Nous avons dit plus haut que nos enfants n'avaient pas paru présenter une résistance accrue aux infections collectives, digestives ou autres. Nous devons cependant signaler la simplicité et la rapidité avec lesquelles ont évolué, chez eux, ces infections intercurrentes: guérison rapide, absence de rechutes, croissance pondérale non modifiée. Reste le cas particulier des gastro-entérites à germes spécifiques. Nous pensions, en début d'expérimentation, et sur le vu des premières modifications de la flore (diminution et tendance à la disparition de *E. Coli*, avant même le développement de *B. b.*) que notre lait bifidogène pouvait exercer, peut-être par l'acidification du tube digestif, un certain effet protecteur contre les infections gastro-in

testinales à *E. Coli* pathogènes. Or, au cours d'infections de crèche, nos enfants ont été contaminés tout autant que l'ensemble des nourrissons de la Pouponnière. Il faut donc admettre que le nouvel aliment ne protège pas contre l'atteinte digestive par ces germes spécifiques; et ceci confirme l'opinion de LAMBRECHTS qui, étudiant l'influence de l'alimentation sur la résistance aux *E. Coli* pathogènes, conclut que son rôle est minime et que tous les enfants, même ceux nourris au lait de femme, sont égaux devant ces infections, aussi bien pour l'incidence que pour la gravité.

Au point de vue bactériologique, nos résultats nous semblent valables: en effet, pour chaque lot expérimenté, nous nous sommes référé à trois séries de témoins:

— d'abord à des enfants nourris au sein, et les pourcentages de *B. b.* que nous avons observés chez eux (cf tableau III) prouvent indiscutablement la valeur de notre technique bactériologique.

— ensuite des nourrissons recevant différents laits non bifidogènes — laits acidifiés à l'acide lactique, laits homogénéisés, laits concentrés sucrés —; ces laits n'ont donné lieu à aucune prolifération bifidale, ce qui nous permet d'écarter, pour nos nourrissons en expérience, l'objection de la flore bifidale spontanée.

— enfin à des enfants recevant le lait acidifié au jus de citron et additionné de bêta lactose, qui a servi de point de départ à ces recherches, lait qui diffère de nos cuissons bifidogènes par la nature de ses glucides et par l'absence du facteur *Bifidus II*. Nous pensions que ces différences modérées nous permettraient une comparaison valable. Or nous avons eu la surprise, chez douze enfants nourris de la sorte, de constater de temps à autre, et sans aucune systématisation chronologique, une discrète croissance de *B. b.* à des taux à vrai dire assez faibles:

8 fois: 5 %	6 fois: 20 %
4 fois: 10 %	4 fois: 25 %
18 fois: 15 %	

LEVESQUE, qui a observé le même phénomène, l'attribue non pas au bêta lactose, mais à de faibles quantités de dextrine maltose d'*Aspergillus orizae*, présentes dans le lait « standard ».

Nos chiffres nous ont montré, dans l'ensemble, une prolifération bifidale assez lente, et ne dépassant pas, en moyenne, 40 %. Si l'on se rappelle les doses utiles de facteur *Bifidus II* préconisées par LEVESQUE « 10.000 unités quotidiennes pour une implantation honorable, 20.000 pour une implantation forte », on comprend aisément que nos nourrissons, recevant en moyenne de 6.000 à 9.000 unités de facteur bifidogène par jour, n'aient présenté qu'une flore bifidale tout juste « honorable ». Il serait évidemment désirable de disposer de lots plus riches en facteur *Bifidus II*, tel ce lait acidifié par *micrococcus caseolyticus* expérimenté par LEVESQUE avec un plein succès : malheureusement la mise au point n'a pu en être faite à l'échelon industriel.

Si l'on se réfère aux critères précisés par PETUELY, force nous est de conclure que les différents lots que nous avons expérimentés n'ont qu'un effet bifidogène partiel ; mais si l'on se rapporte aux résultats que nous avons détaillés plus haut, à propos du lactose et des différents facteurs bifidogènes — résultats obtenus parfois avec des méthodes très contestables —, l'on verra que ce nouvel aliment, par la constance de son action, occupe une place de choix dans l'arsenal des produits bifidogènes. Certes des implantations bifidales à des taux supérieurs sont hautement désirables : mais les recherches sont orientées dans la bonne voie, et l'on peut espérer la prochaine synthèse chimique du facteur de RAYNAUD, ce qui permettrait de l'incorporer au lait à des taux plus importants, avec comme conséquence un effet bifidogène tout aussi constant, mais plus puissant.

CONCLUSIONS

Dans la lutte du « lait de femme contre le lait de vache », pour reprendre l'expression de GYÖRGY, il est certain que le lait de femme garde la première place, mais les modifications industrielles subies par le lait de vache le rapprochent de plus en plus du lait maternel. L'humanisation du lait pêche cependant par un point : l'absence habituelle de production d'une flore fécale spécifique.

Nous pensons avoir montré, dans cet exposé, que cette flore tout à fait spéciale n'est pas seulement le témoin passif du bon état du nourrisson allaité au sein, mais qu'elle contribue activement à son équilibre digestif et général, ainsi que TISSIER l'avait pressenti dès le début de ce siècle.

On reste d'ailleurs étonné, tant les travaux de cet auteur avaient fait le tour complet du « problème *Bifidus* », qu'une solution soit encore à trouver plus de cinquante ans après. En sont responsables, pour une bonne part, les nombreux auteurs qui se sont attaqués à cette question sans y apporter la rigueur scientifique admirable dont TISSIER avait fait preuve. Les travaux modernes semblent cependant s'orienter dans la bonne direction, et la solution du problème paraît proche.

Basés tout d'abord sur le rôle bifidogène du lactose, qui n'a pas résisté aux contrôles expérimentaux, ces travaux ont permis la découverte de trois « substances fonctionnelles » : le lactulose de PETUELY, actif uniquement *in vivo*, le facteur *Bifidus I* de GYÖRGY, apte à favoriser une souche spéciale de *B. b.*, et tout récemment le facteur *Bifidus II* de RAYNAUD qui, stimulant aussi bien *in vitro*

qu'*in vivo* la croissance de souches régulières de *B. b.*, est le seul qui mériterait d'être nommé facteur *Bifidus*. C'est un lait enrichi en ce facteur que nous avons expérimenté chez de jeunes nourrissons: nous avons pu noter sa bonne tolérance clinique et la constance de son effet bifidogène.

L'identification des facteurs de croissance de *B. b.* n'a pas seulement un intérêt diététique. Pour LEVESQUE, « la découverte d'un facteur nécessaire à la croissance *in vitro* d'un microbe équivaut à la découverte d'un facteur nutritionnel pour l'homme. Un certain nombre de vitamines ont été ainsi identifiées ». Dans l'état actuel de la question, ces substances — et tout spécialement le facteur *Bifidus II* de RAYNAUD — se révèlent capables de favoriser dans l'intestin du nourrisson la croissance d'une flore bifidale « artificielle ». Mais il est permis de penser que ces facteurs *Bifidus* « en quête de fonctions » prendront, quand ils seront mieux connus, une importance encore supérieure à celle qu'ils présentent pour le diététicien.

BIBLIOGRAPHIE

1. ADAM (A.). — Grundlagen der Ernährungsphysiologie des *B. bifidus*.
Z. Kinderheilk., 1921, **29**, 306-331.
2. ADAM (A.). — Über die Bedeutung der Eigenwasserstoffzahl und des H. Ionen Optimum der Bakterien.
Zbl. Bakt. I. Orig., 1922, **87**, 481-486.
3. ADAM (A.). — Die Entstehung der Bifidusvegetation.
Jb. Kinderheilk., 1925, **110**, 186-196.
4. ADAM (A.). — Annäherung einer Heilnahrung und die natürliche Ernährung des Säuglings. Ein Beitrag zur Ernsthaltung des künstlichen Bifidumflora.
Mschr. Kinderheilk., 1949, **97**, 500.
5. ADAM (A.) et KISSOFF (P.). — Zur Biologie der Darmflora des Säuglings. Ein Beitrag zur Entstehung des künstlichen Bifidumflora.
Z. Kinderheilk., 1923, **34**, 207-212.
6. ADAM (A.) et KISSOFF (P.). — Zur Biologie der Darmflora des Säuglings. Das quantitative Verhältnis von *B. bifidus* zu *B. acidophilus*.
Z. Kinderheilk., 1923, **34**, 213-215.
7. ADAMEK (H.) et STENGER (K.). — Bemerkung über die Pathogenese des Säuglingsdurchfalles.
Mschr. Kinderheilk., 1950, **98**, 236-237.
8. ALBARRAN (J.) et COTTET (J.). — Le rôle des microbes anaérobies dans l'infection urinaire.
Presse méd., 1903, **11**, 85-86.
9. BAHRDT (H.) et BEIFELD (H.). — Über die Wirkung der Nahrungskomponenten der Frauenmilch auf die Darmflora des Säuglings.
Jb. Kinderheilk., 1910, **72**, 71-93.
10. BAMBERGER (P.). — Zur Morphologie und Biochemie des Bacterium Bifidum.
Moderne Probleme der Pädiatrie, 1957, **2**, 13-23.
S. Karger, éd., Basel-New-York.
11. BARKER (J.-C.). — The diet in typhoid fever.
J. Amer. Med. Ass., 1914, **63**, 929-931.
12. BEERENS (H.). — Méthode d'isolement de Bifidobacterium bifidum. (Communication personnelle).
13. BEERENS (H.) et GUILLAUME (J.). — Technique de détermination de la sensibilité des bactéries anaérobies aux antibiotiques par la méthode des disques.
Ann. Inst. Pasteur, 1954, **86**, 781-785.
14. BERGER (H.). — Zum Problem « humanisierter » Milchen.
Moderne Probleme der Pädiatrie, 1957, **2**, 70-84.
S. Karger éd., Basel-New-York.

15. BERGEY (D.-H.). — Manual of determinative Bacteriology.
1948, 353-369. The Williams et Wilkins Company Ed., Baltimore.
16. BESSAU (G.). — Die Saprophyten der Milch und ihre Bedeutung.
Acta Paediat. (Upps.), 1933, **16**, 299-324.
17. BESSAU (G.). — Zum Problem der kunstlichen Ernährung des Säuglings.
Dtsch. med. Wschr., 1938, **64**, 397-403.
18. BESSAU (G.). — Die künstliche Ernährung des Säuglings.
Msschr. Kinderheilk., 1943, **92**, 137-171.
19. BLAUROCK (G.). — Zur Physiologie der Bifidusbakterien.
Msschr. Kinderheilk., 1937, **68**, 304-309.
20. BLAUROCK (G.). — Bifidus Zuchtung auf Zystinhaltigen Nährboden.
Zbl. Bakt. I. Orig., 1939, **144**, 75-79.
21. BLAUROCK (G.). — Züchtung von Bifidusbakterien aus der Vaginalflora.
Dtsch. med. Wschr., 1940, **66**, 1133.
22. BLUDHORN (K.). — Untersuchungen über den *B. bifidus* und den *B. acidophilus*.
Jb. Kinderheilk., 1910, **72**, 693-704.
23. BOVENTER (K.). — Untersuchungen über das *Bacterium bifidum*.
Zbl. Bakt. I. Orig., 1938, **142**, 419-430.
24. BOVENTER (K.). — *Bacterium Bifidum* und seine Bedeutung.
Ergebn. Hyg., 1949, **26**, 193-234.
25. BRAUN (O.-H.) et DENHERT (J.). — Untersuchungen über Bifiduswuchsstoffe.
Msschr. Kinderheilk., 1955, **103**, 177-178.
26. BRAUN (O.-H.) et MARGET (W.). — Ein einfaches Nährmedium zur Zuchtung von *L. bifidus* und *L. acidophilus*.
Zbl. Bakt. I. Orig., 1952, **158**, 95-96.
27. BUDIAŃSKI (E.). — Significance of Bifidusflora in infant's intestins.
Arch. Pediat. Uruguay, 1943, **14**, 763-773.
28. CATALDI (M.-S.) et MONTAGNA (C.-P.). — Microflora in infants fed human milk.
Rev. Assoc. argent. Diet., 1944, **2**, 36-40.
29. CATALDI (M.-S.) et MULLER (A.). — Microflora of colostrum and superficial skin of maternal breast in relation to that of digestive tract of newborn. Presence of *L. Bifidus*.
Dia. med. urug., 1947, **19**, 473-475.
30. CATEL (W.). — Über die Ernährung gesunder Frühgeburten und Säuglinge.
Msschr. Kinderheilk., 1939, **81**, 334-340.
31. CIRILLO (G.). — Le *B. bifidus* dans quelques formes de cystite aiguë hémorragique de la première enfance.
J. Urol. (Paris), 1924, **7**, 25-28.
32. CONRADI (H.) et KURPJUWEIT (O.). — Über spontane Wachstumshemmung der Bakterien infolge Selbstvergiftung.
Munch. med. Wschr., 1905, **52**, 1761-1764.
33. CORRIAL (M.). — Etude d'un lait de vache adapté à l'alimentation du nourrisson.
Thèse Vét. Lyon, 1956; Annequin Ed., Lyon.
34. CRUICKSHANK (R.). — *B. Bifidus*, its characters and isolation from the intestine of infants.
J. Hyg., 1925, **24**, 241-245.
35. DELBOVE (P.). — Le *Bacillus bifidus*. Son antagonisme bactérien.
Thèse Méd. Paris, 1932.

36. DELTHIL (P.). — Le lactose dans l'alimentation du nourrisson.
Sem. Hôp. Paris, 1953, **29**, 2335-2340.
37. DIGEON (M.) et RAYNAUD (M.). — Recherches sur la flore intestinale anaérobie du nourrisson normal.
Ann. Inst. Pasteur, 1952, **82**, 362-365.
38. DISTASO (A.). — Sur les microbes acidotolérants de la flore intestinale.
Zbl. Bakt. I. Orig., 1911, **59**, 48-63.
39. DISTASO (A.) et SCHILLER (J.). — Sur l'acclimatation de microbes étrangers à la flore intestinale.
C. R. Soc. Biol. (Paris), 1914, **76**, 243-244.
40. DREYFUSS (S.). — Sur la flore intestinale des enfants à alimentation mixte.
C. R. Soc. Biol. (Paris), 1925, **25**, 119-141.
41. DUMAS (J.). — Bactériologie Médicale.
p. 798-803; Flammarion Ed., Paris.
42. DUSTERWALD (W.), KASTNER (W.) et MULLER (H.). — Über ein neues Bifidum erzeugendes Nahrungsgemisch für Säuglinge der ersten Lebensmonate.
Med. Klinik., 1950, **45**, 1143-1146.
43. EHRENBURG (R.). — Die Förderung der Resorption schwerlöslicher Kalksalze im menschlichen Verdauungstractus durch Vitamin B₁.
Klin. Wschr., 1949, **27**, 337-338.
44. EPSTEIN (B.). — Zur Frage der Ernährung mit abgedrückter Frauenmilch.
Acta Paediat. (Upps.), 1933, **16**, 521-526.
45. EPSTEIN (B.) et JELINEK (O.). — Abweichungen von der physiologischen Darmflora bei mit abgedrückter Frauenmilch ernährten Säuglingen.
Arch. Kinderheilk., 1932, **95**, 194-201.
46. ESCHERICH (T.). — Beiträge zur Kenntniss der Darmbakterien.
Munch. Med. Wschr., 1886, **33**, 2-7.
47. FINKELSTEIN (H.). — Über säureliebende Bacillen im Säuglingstuhl.
Dtsch. med. Wschr., 1900, **26**, 263.
48. FINKELSTEIN (H.). — Sammelreferate über neuere Erfahrungen in der Säuglingsernährung.
Ther. d. Gegenw., 1903, **44**, 550-555.
49. FRAENKEL (T.). — Contribution à l'étude des modifications des pigments biliaires dans l'intestin du nourrisson.
Thèse Méd. Paris, 1923.
50. FRISSELL (E.). — Studies on Bacterium Bifidum in healthy infants.
Acta Paediat. (Upps.), 1951, **40**, 2-120.
51. GAUHE (A.), GYÖRGY (P.), HOOVER (J.-R.-E.), KUHN (R.), RUELIUS (H.-W.) et ZILLIKEN (F.). — Bifidus factor; preparations obtained from human milk.
Arch. Biochem. Biophys., 1954, **48**, 214-224.
52. GERBER (B.) et SCHWARTZER (K.). — Zum Chemismus des B. bifidus.
Arch. Kinderheilk., 1937, **112**, 129-135.
53. GERSTLEY (J.-R.), HOWELL (K.-M.) et NAGEL (B.-R.). — Some factors influencing fecal flora of infants.
Amer. J. Dis. Child., 1932, **43**, 555-565.
54. GYLLENBERG (H.). — A note on the toxanomy of L. bifidus.
Int. Bull. bact. Nomencl., 1955, **5**, 161-164.
55. GYLLENBERG (H.). — The development of the straight rod type of L. bifidus.
J. gen. Microb., 1955, **13**, 394-397.

56. GYLLENBERG (H.), ROSSANDER (M.) et ROINE (P.). — A strain of *L. bifidus* which requires streptogenin.
J. gen. Microb., 1953, **9**, 190-198.
57. GYLLENBERG (H.), ROSSANDER (M.) et ROINE (P.). — On the growth inhibition of *L. bifidus* by certain fatty acids.
Acta Chem. Scand., 1954, **8**, 133-134.
58. GYÖRGY (P.). — A hitherto unrecognized biochemical difference between human milk and cow's milk.
Pediatrics, 1953, **11**, 98-109.
59. GYÖRGY (P.). — Human milk versus cow's milk.
3^e Congrès International de la Nutrition, Amsterdam, 1954.
Voeding, 1955, **16**, 203-215.
60. GYÖRGY (P.). — Nutrition and intestinal flora in man.
4^e Congrès International de la Nutrition, Paris, 1957.
Ann. Nutrit. et alim., 1957, **11**, 189-203.
61. GYÖRGY (P.). — Development of intestinal flora in the breast fed infant.
Moderne Probleme der Pädiatrie, 1957, **2**, 1-12.
S. Karger éd., Basel-New-York.
62. GYÖRGY (P.), HOOVER (J.-R.-E.), KUHN (R.) et ROSE (C.-S.). — Bifidus factor: rate of dialysis.
Arch. Biochem. Biophys., 1954, **48**, 209-213.
63. GYÖRGY (P.), HOOVER (J.-R.-E.), KUHN (R.) et ROSE (C.-S.). — *L. acidophilus* and *L. bifidus* in their relation to infant feeding.
Quart. Rev. Pediat., 1955, **10**, 17-22.
64. GYÖRGY (P.), KUHN (R.), ROSE (C.-S.) et ZILLIKEN (F.). — Bifidus factor: occurrence in milk from different species and in other natural product.
Arch. Biochem. Biophys., 1954, **48**, 202-208.
65. GYÖRGY (P.), KUHN (R.) et ZILLIKEN (F.). — Food compositions.
U. S. Patent Off., 1954, 16, XI, n° 2,694.640.
66. GYÖRGY (P.), KUHN (R.) et ZILLIKEN (F.). — Food compositions.
U. S. Patent Off., 1955, 14, VI, n° 2,710.806.
67. GYÖRGY (P.), KUHN (R.) et ZILLIKEN (F.). — Food products containing glucosides of N. Acetyl D Glucosamine.
U. S. Patent Off., 1955, 14, VI, n° 2,710.807.
68. GYÖRGY (P.), KUHN (R.) et ZILLIKEN (F.). — Food products containing glucosides of N. Acetyl D Glucosamine.
Canada Patent Off., 1955, 8, XI, n° 518.187.
69. GYÖRGY (P.), NORRIS (R.-F.) et ROSE (C.-S.). — Bifidus factor; Variant of *L. bifidus* requiring special growth factor.
Arch. Biochem. Biophys., 1954, **48**, 193-201.
70. GYÖRGY (P.) et ROSE (C.-S.). — Further observations on the metabolic requirements of *L. Bifidus* var. Penn.
J. Bact., 1955, **69**, 483-490.
71. HABILD (G.). — Über das Vorkommen von alpha Laktose und beta Laktose in der Frauenmilch und in der Kuhmilch.
Z. Kinderheilk., 1949, **67**, 206-220.
72. HAENEL (H.). — Über das Vorkommen von anaeroben Lactobacillen beim Säuglingen und Erwachsenen.
Z. Kinderheilk., 1956, **78**, 592-596.
73. HASSINEN (J.-B.), DURBIN (G.-T.), TOMARELLI (R.-M.) et BERNHART (F.-W.). — Minimal nutritional requirements of *L. bifidus*.
J. Bact., 1951, **62**, 771-777.

74. HERTER (C.-A.). — Bacterial infections of the digestive tract.
J. Amer. Med. Ass., 1907, **48**, 985-992.
75. HULL (T.-G.) et RETTGER (L.). — The influence of milk and carbohydrate feeding on the character of the intestinal flora.
J. Bact., 1917, **2**, 47-71.
76. JORNS (J.). — Über den Einfluss des Streptomycins auf die Entwicklung der Bifidusflora im Darm des Neugeborenen.
Z. Kinderheilk., 1952, **70**, 381-386.
77. KENDALL (A.-I.) et HANER (R.-C.). — *B. bifidus*. Studies in bacterial metabolism.
J. inf. Dis., 1924, **35**, 77-88.
78. KLEINSCHMIDT (H.). — Studien über die Anaerobier des Säuglingsdarms.
Mschr. Kinderheilk., 1925, **29**, 550-554.
79. KLEINSCHMIDT (H.). — Versuche zur Anpassung der künstlichen an die natürliche Nahrung des Säuglings.
Osterr. Z. Kinderheilk., 1949, **3**, 55-58.
80. KLING (C.). — Du rôle physiologique joué par le *B. bifidus* dans le canal intestinal.
Ann. Inst. Pasteur, 1914, **28**, 797-806.
81. KUHN (R.). — Vitamine der Milch.
Angew. Chem., 1952, **64**, 493.
82. KUHN (R.). — Über die Oligosaccharide der Frauenmilch.
Angew. Chem., 1955, **67**, 184.
83. KUHN (R.), BAER (H.-H.) et GAUHE (A.). — Chemische und enzymatische Synthese der 6- α -beta d galactosido N acetyl Glucosamin; enzymatische Synthese der Allolactose.
Chem. Berichte, 1955, **88**, 1135.
84. KUHN (R.) et KIRSCHENLOHR (W.). — Synthese der 6 beta N acetyl Glucosaminido d-Glucose und d-Galactose.
Chem. Berichte, 1954, **87**, 384.
85. KUHN (R.) et TIEDEMANN (H.). — Zum Stoffwechsel des « *L. B.* »; die Umsetzung von radioaktiver « *C¹⁴* glucose ».
Z. Naturforsch., 1953, **8b**, 428-536.
86. KUNDRATITZ (K.) et GROSS (H.). — Durch pathogene Colistämme bedingte Enteritiden im Säuglingsalter und deren Behandlung.
Osterr. Z. Kinderheilk., 1953, **8**, 306.
87. LAMBRECHTS (A.). — Gastro-entérites à Colibacilles pathogènes du jeune nourrisson.
Presse méd., 1957, **65**, 1607-1609.
88. LAUTER (L.). — Über das Vorkommen des *B. bifidus* bei Neugeborenen.
Zbl. Bakt. I. Orig., 1921, **86**, 579-581.
89. LAVERGNE (E. de), BURDIN (J.-C.), SCHMITT (J.) et LE MOYNE (Mlle M.-T.). — Etude du comportement de 17 espèces anaérobies strictes vis-à-vis de 11 antibiotiques.
Ann. Inst. Pasteur, 1956, **91**, 631-640.
- 89 bis. LAVERGNE (E. de), BURDIN (J.-C.), SCHMITT (J.) et M'ANCIAUX (M.). — Sensibilité de *Bifidobacterium bifidum* à 11 antibiotiques.
Soc. Biol. Nancy, 9. XII. 1958.
90. LEMKE (H.). — Über die Gerinnungsunterschiede zwischen Frauen- und Kuhmilch und die Angleichung künstlicher Nahrungen durch Kalkentzug aus Kuhmilch.
Mschr. Kinderheilk., 1951, **99**, 409-421.
91. LEMKE (H.). — Untersuchungen über die Stuhlflora des Säuglings bei Humana Milch Ernährung.
Mschr. Kinderheilk., 1953, **101**, 380-386.

92. LEVESQUE (J.). — Généralités sur le *Bacillus bifidus* chez le nourrisson.
A paraître in *Ann. Pédiat., Sem. Hôp. Paris.*
93. LEVESQUE (J.). — Les problèmes du *Bacillus bifidus*.
A paraître in *Ann. Pédiat., Sem. Hôp. Paris.*
94. LEVESQUE (J.), AICARDI et Mlle GAUTIER. — Rôle du facteur *Bifidus* 2 dans l'installation et le maintien de la flore *Bifidus* du nourrisson.
A paraître in *Ann. Pédiat., Sem. Hôp. Paris.*
95. LEVESQUE (J.) et BASTIN (R.). — L'action neurophylactique du lait de femme.
Presse méd., 1946, **54**, 251-252.
96. LEVESQUE (J.) et RAYNAUD (M.). — Rôle du « Facteur *Bifidus* 2 » dans l'établissement et le maintien de la flore bifide chez le nourrisson.
4^e Congrès International de la Nutrition, Paris, 1957; résumé des communications, p. 66.
97. MAASSEN (W.) et ALBERTSEN (W.). — Untersuchungen zur Feststellung des Übergangs von *Bact. bifidum* auf den Neugeborenen.
Arch. Hyg. (Berlin), 1940, **123**, 367-380.
98. MALYOTH (G.). — Über Dextrin-Maltose-Gemische als Zucker für Säuglinge.
Ann. Paediat. (Basel), 1949, **173**, 34-50.
99. MALYOTH (G.) et BAUER (A.). — Beobachtungen am *Bacterium bifidum*.
Z. Kinderheilk., 1950, **68**, 358-367.
100. MALYOTH (G.) et BAUER (A.). — Versuch einer Differenzierung beim *Bacterium Bifidum*.
Klin. Wschr., 1950, **28**, 451-452.
101. MALYOTH (G.) et BAUER (A.). — Ein halbsynthetischer Nährboden für *Bacterium Bifidum*.
Z. Hyg., 1953, **137**, 174-176.
102. MALYOTH (G.) et KIRIMLIDIS (S.). — Die Stellung des Milchzuckers in der Säuglingsnahrung.
Klin. Wschr., 1939, **18**, 1240-1270.
103. MALYOTH (G.) et SPANIER (J.). — Eine *Bifidus*fördernde Säuglingsnahrung im klinischen Versuch.
Munch. med. Wschr., 1950, **92**, 607-614.
104. MALYOTH (G.) et STEIN (H.-W.). — Zur Kenntnis des Milchzuckers.
Klin. Wschr., 1953, **31**, 36-38.
105. MARGET (W.) et NABER (G.). — Über das Wachstum von *L. Bifidus* inerhitzter und verdauter Frauenmilch.
Mshr. Kinderheilk., 1955, **103**, 181-184.
106. MAYER (J.-B.). — Entwicklung einer neuen Säuglingsnahrung mit *Thermobakterium bifidum*.
Z. Kinderheilk., 1948, **65**, 293-319.
107. MAYER (J.-B.). — Die *Bifidum*milch und ihre Erfolge.
Mshr. Kinderheilk., 1949, **98**, 189-191.
108. MAYER (J.-B.). — Erzeugung einer physiologischen Darmflora bei künstlicher Ernährung mit *Bifidum*milch und ihre Auswirkung auf das Gedeihen des Kindes.
6^e Internat. Pädiaterkongr., Zurich, 1950.
Résumé des communications, p. 55.
109. MAYER (J.-B.). — Das *Bifidum* Problem.
Ergebn. inn. Med. Kinderheilk., 1956, **7**, 429-452.

110. MAYER (J.-B.) et MOSER (L.). — Die Typendifferenzierung des Thermobakterium Bifidum.
Z. Kinderheilk., 1950, **67**, 455-468.
111. MONTANA (C.-P.) et CATALDI (M.-S.). — Intestinal microflora of infants in relation to type of feeding.
Rev. Soc. pueric. Buenos-Aires, 1943, **9**, 115-117.
112. MONTAGNA (C.-P.) et CATALDI (M.-S.). — L. Bifidus; presence in meconium and in vagina of mother.
Rev. Assoc. argent. Diet., 1944, **2**, 47-50.
113. MONTREUIL (J.). — Les glucides du lait de femme.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1957, **39**, 395-411.
114. MORELL (T.). — Über die Bedeutung der physiologischen Darmflora für den Vitaminhaushalt.
Dtsch. med. Wschr., 1938, **64**, 1649-1650.
115. MORO (E.). — Über die nach Gram färbaren Bacillen des Säuglingsstuhles.
Wien. Klin. Wschr., 1900, **13**, 114-115.
116. MORO (E.). — Morphologische und biologische Untersuchungen über die Darmbakterien des Säuglings.
Jb. Kinderheilk., 1905, **61**, 687-734.
117. MOSER (L.). — Neuere Untersuchungen über die Herkunft des Bacterium bifidum.
Z. Kinderheilk., 1950, **68**, 25-31.
118. MULLER (E.). — Chemie und Hygiene der Milch.
Mschr. Kinderheilk., 1954, **102**, 312-322.
119. MULLER (H.) et ALDICK (G.). — Untersuchungen zum Problem der Frühgeborenen und Säuglingsernährung mit Kuhmilchpräparaten.
Medizinische, 1955, **18**, 916-920.
120. NAUJOKS (H.). — Das Vorkommen des B. acidophilus bei Schwangeren und Gebärenden und sein zeitlicher und örtlicher Übergang auf den Neugeborenen.
Zbl. Bakt. Orig., 1921, **86**, 582-585.
121. NICOLAU (I.), BURLUI (A.) et COHN (A.). — Bacilul bifidus si importanta sa in nutritia sugarului.
Pediatrics, 1958, **7**, 193-201.
122. NOGUCHI (H.). — Pleomorphism and pleobiosis of B. bifidus communis.
J. Exper. Med., 1910, **12**, 182-195.
123. NORRIS (R.-F.), FLANDERS (T.), TOMARELLI (R.-M.) et GYÖRGY (P.). — The isolation and cultivation of L. bifidus. A comparison of branched and unbranched strains.
J. Bact., 1950, **60**, 681-696.
124. NORRIS (R.-F.), SIPIN (M. de), ZILLIKEN (F.-W.), HARVEY (T.-S.) et GYÖRGY (P.). — Occurrence of mucoid Variants of L. bifidus. Demonstration of cellular and intracellular polysaccharide.
J. Bact., 1954, **67**, 159-166.
125. OLSEN (E.). — Studies on the intestinal flore of infants.
Ein. Munksgaard, Copenhagen, 1949.
126. OPPEL (T.-W.). — Studies of biotin metabolism in man; relationship between biotin content of diet and its output in urine and feces.
Amer. J. Med. Sc., 1942, **204**, 856-875.
127. ORLA-JENSEN (S.). — Classification des bactéries lactiques.
Le Lait, 1924, **4**, 468-480.

128. ORLA-JENSEN (S.). — The lactic acid bacteria.
Danske Vidensk. Selsk. Biol. Skr., 1943, **2**, 3-10.
129. ORLA-JENSEN (S.), ORLA-JENSEN (A.-D.), DAM (H.) et GLAVIND (J.). — Über die Vitamin K. Bildung einiger Darmbakterien.
Zbl. Bakt. II Orig., 1939, **104**, 202-208.
130. ORLA-JENSEN (S.), ORLA-JENSEN (A.-D.) et WINTHER (O.). — B. bifidum und Thermobakterium intestinale.
Zbl. Bakt., I Orig., 1935, **93**, 321-330.
131. PASCHLAU (G.). — Erfahrungen mit der Bessaunahrung bei der Aufzucht von Säuglingen.
Arch. Kinderheilk., 1941, **122**, 177-196.
132. PASSINI (F.). — Über das regelmässige Vorkommen der verschiedenen Typen der streng anaerobischen Buttersäure - Bakterien im normalen Stuhle.
J. Bak., 1903, **57**, 87-90.
133. PATZ (O.). — Einfluss von Infekten, Medikamenten und Witterung auf die künstliche Bifidumflora des Säuglingsdarmes.
Msc^{hr}. Kinderheilk., 1951, **99**, 353-354.
134. PAUPE (A.). — Physiologie du métabolisme du calcium et du phosphore chez le nouveau-né et le nourrisson.
9^e Journées d'Etudes et d'Information sur le nouveau-né, le prématuré et le nourrisson.
Résumé des communications, 1-15.
135. PETUELY (F.). — Der Bifidusfaktor, ein neuer Vitaminartiger Wirkstoff.
Naturwissenschaften, 1953, **40**, 349-352.
136. PETUELY (F.). — Ist eine quantitative Erfassung der in Säuglingsstühlen vorhandenen Bifiduskeine durch Züchtung möglich? Ein Selektivnährboden für den Lb. Bifidus.
Z. Kinderheilk., 1956, **78**, 28-34.
137. PETUELY (F.). — Über das Bifidusproblem.
Munch. med. Wschr., 1956, **263**, 304-307.
138. PETUELY (F.). — Der Bifidusfaktor.
Dtsch. med. Wschr., 1957, **82**, 1957-1960.
139. PETUELY (F.). — Bifidumflora bei Flaschenkindern durch bifidogene Substanzen (Bifidusfaktor).
Z. Kinderheilk., 1957, **79**, 174-179.
140. PETUELY (F.). — Über die quantitative Erfassung des Lb. bifidus im Stuhl von Säuglingen.
Z. Kinderheilk., 1957, **79**, 180-184.
141. PETUELY (F.). — Biochemische Untersuchungen zur Regulation der Dickdarmflora des Säuglings (über den Bifidusfaktor).
1957. IBM-Satz Ed., Wien 1, Judenplatz 11.
142. PETUELY (F.). — Über die Beeinflussbarkeit der Dickdarmflora durch den Bifidusfaktor.
4^e Congrès International de la Nutrition, Paris, 1957.
Résumé des communications, p. 60.
143. PETUELY (F.) et EICHLER (F.). — Über die Züchtung des Lb Bifidus auf vollsynthetischem Nährboden.
Biochem. Z., 1952, **322**, 463-466.
144. PETUELY (F.) et EICHLER (F.). — Beeinflussung der Wuchsformen des Lb Bifidus.
Z. Naturforsch., 1954, **9b**, 229-234.

145. PETUELY (F.) et KRISTEN (G.). — Versuche zur Umstimmung der Darmflora des Säuglings.
Ann. Paediat. (Basel), 1949, **172**, 183-184.
146. PETUELY (F.) et LYNAU (V.). — Ein einfacher, vollsynthetischer optimalnährboden für den Lb Bifidus (über die Bedeutung des Ascorbinsäure für das Wachstum des Lb Bifidus).
Biochem. Z., 1954, **326**, 62-78.
147. PLOTTO (O. von). — Untersuchungen an B. bifidum.
Zbl. Bakt. I Orig., 1947, **152**, 90-95.
148. POLONOVSKI (M.) et LESPAGNOL (A.). — Un nouveau constituant glucidique du lait de femme, le gynolactose.
C. R. Soc. Biol. (Paris), 1930, **104**, 553-555.
149. POLONOVSKI (M.) et LESPAGNOL (A.). — Sur l'existence de plusieurs glucides dans le lactosérum de femme.
C. R. Soc. Biol. (Paris), 1930, **104**, 555-557.
150. POLONOVSKI (M.) et LESPAGNOL (A.). — Sur deux nouveaux glucides du lait de femme, le gynolactose et l'allolactose.
C. R. Acad. Sci. (Paris), 1931, **192**, 1319.
151. POLONOVSKI (M.) et LESPAGNOL (A.). — Nouvelles acquisitions sur les composés glucidiques du lait de femme.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1933, **15**, 320-341.
152. POLONOVSKI (M.) et MONTREUIL (J.). — Etude chromatographique des polysides du lait de femme.
C. R. Acad. Sci. (Paris), 1954, **238**, 2263-2264.
153. PREVOT (A.-R.). — Manuel de classification et de détermination des bactéries anaérobies.
Masson et Cie, Ed., Paris, 1957.
154. PREVOT (A.-R.) et FERLY (A.). — Application de la méthode au vert janus à la détermination de la pénicillosensibilité des anaérobies.
Bull. Acad. Méd. Paris, 1946, **130**, 123-124.
155. PREVOT (A.-R.) et RAYNAUD (M.). — Au sujet de la distinction entre Bifidobacterium Bifidum et Lactobacillus Acidophilus.
Ann. Inst. Pasteur, 1955, **88**, 229-231.
156. RACH (E.) et REUSS (A. von). — Zur Aetiologie der Cystitis im Kindesalter (Bacillus bifidus communis und ein paracolibacillus).
Zbl. Bakt. I Orig., 1909, **2**, 160-171.
157. RAYNAUD (M.). — Le facteur Bifidus 2.
A paraître in *Ann. Pédiat., Sem. Hôp. Paris*.
158. REICHEL (E.). — Hat die Bifidusflora vitaminartige Wirkung?
Mtschr. Kinderheilk., 1935, **63**, 138-141.
159. REICHEL (E.). — Vergleich der Vitaminwirkung von B. bifidum und B. coli mit Hilfe der Reistaubenmethode.
Mtschr. Kinderheilk., 1939, **77**, 327-334.
160. RIESS (E.). — Untersuchungen über die Darmflora des Säuglings unter besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse beim durch Schnittentbindung geborenen Kind.
Z. Kinderheilk., 1954, **74**, 343-348.
161. ROBINSON (M.). — Infant morbidity and mortality. A study of 3266 infants.
Lancet, 1951, **260**, 788-793.
162. ROINE (P.), GYLLENBERG (H.) et SALAKIVI (V.). — Détermination of streptogenin with L. bifidus.
Acta Chem. Scand., 1954, **8**, 161.

163. ROSE (C.-S.) et GYÖRGY (P.). — Observations on bacterial interaction.
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), 1955, **89**, 23-26.
164. ROSE (C.-S.), KUHN (R.), ZILLIKEN (F.) et GYÖRGY (P.). — The activity of alpha and beta methyl N acetyl D glucosaminides.
Arch. Biochem. Biophys., 1954, **49**, 123-129.
165. ROSE (C.-S.), LUCHI (R.-J.), AVERY (A.), NORRIS (R.-F.) et GYÖRGY (P.). — Mono and disaccharides in growth of *Lactobacillus* and its mutants bifidus.
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), 1952, **81**, 712-715.
166. ROSENTHAL (L.) et LIEBERMANN (H.). — Rôle of lysozyme in development of the intestinal flora of newborn infant.
J. inf. Dis., 1931, **48**, 226-235.
167. ROSS (C.-A.). — Direct microscopic examination of feces in infants.
Brit. med. J., 1950, **1**, 465-467.
168. ROSS (C.-A.) et DAWES (E.-A.). — Resistance of bread-fed infant to gastro-enteritis.
Lancet, 1954, **1**, 994-998.
169. ROSSIER (A.). — L'alimentation du prématuré.
Entretiens Bichat, Paris, 1958.
170. ROUFOGALIS (S.). — Untersuchungen über die Besiedlung des Neugeborendarmes mit *B. bifidum*.
Z. Hyg. Infektkr., 1941, **123**, 195-217.
171. RUHLE (R.). — Nahrung, Stuhlbeschaffenheit und Bifidusflora.
Jb. Kinderheilk., 1924, **54**, 39-64.
172. SACREZ (R.), HEUMANN (G.) et MINCK (R.). — Influence des antibiotiques sur les flores intestinale, nasale et buccale de l'enfant.
Strasbourg méd., 1957, **8**, 10-15.
173. SCHIAPARELLI (P.). — Osservazioni sull'isolamento e sulla morfologia del *B. bifido*.
Bol. Inst. Sierot (Milano), 1929, **8**, 533-537.
174. SCHÖNFELD (H.). — Über die Beziehungen der einzelnen Bestandteile der Frauenmilch zur Bifidusflora.
Jb. Kinderheilk., 1926, **63**, 19-60.
175. SCHÖNFELD (H.). — Zur Frage der Bifidusentstehung bei künstlichen Nährgemischen.
Jb. Kinderheilk., 1953, **139**, 215-218.
176. SCHWEIGERT (B.-S.) Mc INTIRE (J.-M.), HENDERSON (L.-M.) et ELVEHJEM (C.-A.). — Intestinal synthesis of *B. vitamins* by rat.
Arch. Biochem. Biophys., 1945, **6**, 403-410.
177. SEGUIN (P.). — Etiologie microbienne de la carie dentaire.
VIII^e Congrès Dentaire International, Paris, 1931.
Volume des rapports, II, p. 2-13.
178. SENGENHOFF (A.). — Abweichungen von der physiologischen Darmflora bei mit Frauenmilch ernährten Frühgeborenen.
Mschr. Kinderheilk., 1928, **40**, 263-269.
179. SERICK (E.) et BAUER (A.). — Zur Wuchsstofffrage des *B. bifidum*.
Z. Kinderheilk., 1953, **73**, 334-341.
180. SEYFFAHT (S.). — Über Colibefunde im Magen und Stuhl frühgeborener Kinder.
Mschr. Kinderheilk., 1932, **52**, 73-94.
181. SITTLER (P.). — Beiträge zur Bakteriologie des Säuglingsdarmes.
Zbl. Bakt. I Orig., 1908, **47**, 141-145.

182. SNYDER (M.-L.). — Bacterial flora of meconium specimens collected from 64 infants within 4 hours after delivery.
J. Pediat., 1936, **9**, 624-632.
183. SNYDER (M.-L.). — Normalfecal flora of infants between two weeks and on year of age.
J. Inf. Dis., 1940, **66**, 1-16.
184. SPRINGER (G.-F.) et GYÖRGY (P.). — Über Beziehungen zwischen Castle's intrinsecfaktor und Blutgruppenmucoiden.
Klin. Wschr., 1955, **33**, 627-628.
185. SPRINGER (G.-F.), ROSE (C.-S.) et GYÖRGY (P.). — Blood group mucoids: their distribution and growth promoting properties for *L. Bifidus* var Penn.
J. Lab. clin. Med., 1954, **43**, 532-542.
186. STEFF (W.). — Die Milch im Lichte der modernen Ernährungsforschung.
Munch. med. Wschr., 1955, **97**, 323-325, 360-363.
187. STEWART (A.) et WESTROPP (C.). — Breast feeding in Oxford Child Health Survey; comparison of bottle and breast fed babies.
Brit. med. J., 1953, **2**, 305-308.
188. STRANSKY (E.). — Les microbes intestinaux et leur signification clinique chez le nourrisson.
Rev. franç. Pédiat., 1928, **4**, 143-160.
189. STRANSKY (E.) et MASLOWSKI (H.). — Weitere Untersuchungen über Darmbakterie gleichzeitig ein Beitrag zur Biologie des *B. bifidus*.
Z. Kinderheilk., 1927, **43**, 717-723.
190. THURAU (R.). — Die Bedeutung der künstlichen Bifidumflora.
Msch. Kinderheilk., 1955, **103**, 176-177.
191. TISSIER (H.). — La réaction chromophile d'Escherich et le *Bacterium Coli*.
C. R. Soc. Biol. (Paris), 1899, **51**, 943-945.
192. TISSIER (H.). — Recherches sur la flore intestinale des nourrissons (état normal et pathologique).
Thèse Méd. Paris, 1899-1900.
193. TISSIER (H.). — Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson.
Ann. Inst. Pasteur, 1905, **19**, 109-127.
194. TISSIER (H.). — Traitement des infections intestinales par la méthode de transformation de la flore bactérienne de l'intestin.
C. R. Soc. Biol. (Paris), 1906, **60**, 359-361.
195. TISSIER (H.). — Recherches sur la flore intestinale normale des enfants âgés d'un à cinq ans.
Ann. Inst. Pasteur, 1908, **22**, 189-207.
196. TOMARELLI (R.-M.), HASSINEN (J.-B.), ECKHARDT (E.-R.), CLARK (R.-H.) et BERNHART (F.-W.). — Isolation of crystalline growth factor for strain of *L. bifidus*.
Arch. Biochem. Biophys., 1954, **48**, 225-232.
197. TOMARELLI (R.-M.), HASSINEN (J.-B.), MASON (J.-T.-D.), DURBIN (G.-T.) et BERNHART (F.-W.). — Infant feeding composition.
U. S. Patent Off., 1954, 21, XII, n° 2.697.663.
198. TOMARELLI (R.-M.), NORRIS (R.-F.) et GYÖRGY (P.). — Inability of vitamin B₁₂ to replace the desoxyriboside requirement of *L. bifidus*.
J. Biol. Chem., 1949, **179**, 485-486.
199. TOMARELLI (R.-M.), NORRIS (R.-F.), GYÖRGY (P.), HASSINEN (J.-B.) et BERNHART (F.-W.). — The nutrition of variants of *L. bifidus*.
J. Biol. Chem., 1949, **181**, 879-888.

200. TOMARELLI (R.-M.), NORRIS (R.-F.), ROSE (C.-S.) et GYÖRGY (P.). — The effect of fatty acids on the growth of strains of *L. bifidus*.
J. Biol. Chem., 1950, **187**, 197-204.
 201. TORREY (J.-C.). — The fecal flora of typhoid fever and its reaction to various diets.
J. inf. Dis., 1915, **16**, 72-108.
 202. TSIKLINSKY (P.-V.). — Sur la flore microbienne thermophile du canal intestinal de l'homme.
Ann. Inst. Pasteur, 1903, **17**, 217-220.
 203. UFFELMANN (J.). — Über den Fettgehalt der Fäces gesunder Kinder des ersten Lebensjahres und über die Ausnutzung des Fettes seitens derselben bei verschiedener Ernährung.
Arch. Kinderheilk., 1880, **1**, 1-17.
 204. VEILLON (A.) et ZUBER (A.). — Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle en pathologie.
Arch. méd. exp., 1898, **10**, 517-545.
 205. VIANELLO (A.) et BARATELLA (B.). — Sull' impiego di un nuovo tipo di latte in polvere integrato con fattore bifidus e vitamina B₁₂.
Minerva Pediat., 1957, **44**, 1283-1291.
 206. WALCH (E.). — Die bifidumflora bei natürlich und künstlich ernährten Neugeborenen sowie ihre Beeinflussbarkeit durch verschiedene Nahrungszusätze.
Habilitationsschrift. Heidelberg, 1956.
 207. WALCH (E.). — Zur Frage der Beeinflussbarkeit der Darmflora des Säuglings durch N acetyl D glucosamin-derivate.
Dtsch. med. Wschr., 1956, **81**, 661-664.
 208. WEINBERG (M.), NATIVELLE (R.) et PREVOT (A.-R.). — Les microbes anaérobies.
Masson et Cie, Ed., Paris 1937.
 209. WEISS (H.). — Zur Kenntnis der Darmflora.
Zbl. Bakt. I Orig., 1904, **36**, 13-28.
 210. WEISS (J.-E.) et RETTGER (L.-F.). — *Lactobacillus Bifidus*.
J. Bact., 1934, **28**, 501-521.
 211. WILLIAMS (N.-B.), NORRIS (R.-F.) et GYÖRGY (P.). — Antigenic and cultural relationship of *L. Bifidus* and *L. Parabifidus*.
J. Inf. Dis., 1953, **92**, 121-131.
 212. ZILLIKEN (F.), ROSE (C.-S.), BRAUN (G.-A.) et GYÖRGY (P.). — Preparation of Alkyl N acetyl alpha and beta D Glucosaminides and their microbiological activity for *L. bifidus*.
Arch. Biochem. Biophys., 1954, **48**, 225-232.
 213. ZILLIKEN (F.), SCHMITH (P.-N.), ROSE (C.-S.) et GYÖRGY (P.). — Enzymatic synthesis of a growth factor for *L. bifidus*.
J. Biol. Chem., 1954, **208**, 290-305.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	1

PREMIERE PARTIE BIFIDIBACTERIUM BIFIDUM

Historique	7
<i>Nomenclature et placé dans la systématique</i>	9
<i>Description</i>	10
I — Morphologie	10
II — Physiologie	13
III — Caractères cultureux	13
IV — Caractères biochimiques	17
— fermentation des sucres	17
— autres caractères	17
V — Caractères sérologiques	18
VI — Pouvoir pathogène	19
— spontané	19
— expérimental	19
VII — Sensibilité aux antibiotiques - Antibiogramme	20
<i>Variétés bactériologiques</i>	25
Lactobacillus para Bifidus	25
Lactobacillus Bifidus variété Pennsylvanicus	27
<i>Diagnostic différentiel</i>	27

DEUXIEME PARTIE ETUDE BIOLOGIQUE DE LA FLORE BIFIDALE

I — <i>La flore bifidale du nourrisson au sein</i>	31
I — Le cycle de <i>B. b.</i>	32
Période de stérilité	32
Période d'invasion. Origine	33
Période de stabilisation	36
Variations	38
spontanées	38
provoquées	39
Disparition	40
Cas particulier du prématuré	41

	Pages
2 — Signification de la flore bifidale	42
Les faits	42
Les interprétations	43
Autonettoyage	43
Antagonisme bactérien	44
Synthèse vitaminique	46
Epargne calcique	47
Epargne protidique	47
Conclusions	48
II — Etude des facteurs qui conditionnent l'implantation et la survie de <i>B. b.</i> chez l'enfant nourri artificiellement	51
1 — Introduction et généralités	51
Historique	52
Critères exigés	53
2 — Etude des facteurs Bifidus	55
a) Le lactose et ses dérivés	55
b) Le lactulose de PETUELY	57
c) Le facteur Bifidus I de GYÖRGY	58
d) Le facteur Bifidus II de RAYNAUD	60

TROISIEME PARTIE

EXPERIMENTATION PERSONNELLE

I — Méthodes d'étude	65
1 — Expérimentation clinique	65
2 — Technique bactériologique	66
II — Résultats	68
1 — H ₅	68
a) Résultats cliniques	68
b) Résultats bactériologiques	71
c) Conclusions	72
2 — H ₇	74
a) Résultats cliniques	74
b) Résultats bactériologiques	74
c) Conclusions	76
3 — H ₁₀	76
a) Résultats cliniques	76
b) Résultats bactériologiques	76
c) Conclusions	78
III — Commentaires	79
CONCLUSIONS	83
BIBLIOGRAPHIE	85

Imprimerie Georges Thomas—Nancy.

Dépôt légal IV/1958 - N° 479

